



UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
CARRERA DE QUÍMICA DE ALIMENTOS

**Evaluación de la capacidad de esferificación de quitosano como
sustituto de alginato en la elaboración del falso caviar**

Autor: Evelyn Andrea Rivera Toapanta
eveandrea@hotmail.es

Tesis para optar por el Título Profesional de
QUÍMICA DE ALIMENTOS

Tutor: Quím. Ronny Adrián Flores Ortega, PhD.
raflores@uce.edu.ec

Quito, mayo 2013

Rivera Toapanta, Evelyn Andrea (2013). Evaluación de la capacidad de esferificación de quitosano como sustituto de alginato en la elaboración del falso caviar. Trabajo de investigación para optar por el grado de Químico de Alimentos. Carrera de Química de Alimentos. Quito: UCE. 94p.

Dedicatoria

*Esta tesis va dedicada a Dios, por su amor y por sus bendiciones, gracias a Él he
logrado cumplir esta meta tan esperada, mi graduación.*

Gracias Dios, por amarme y enseñarme que todo tiene su tiempo en ti Señor.

Que cada lágrima derramada valió la pena.

*Gracias por permitir que mis padres estén aquí a mi lado, sintiendo su amor y su
apoyo, en este día tan especial, en este día que permitiste cumplir mi sueño.*

"Lo que uno siembra en lágrimas, cosecha en alegría"

Agradecimiento

Universidad Central del Ecuador y Facultad de Ciencias Químicas, gracias por la educación brindada estos años y haber hecho de mí una profesional.

Normy Toapanta, gracias por ser mi amiga, por no dejarme desvanecer, gracias por haber limpiado mis lágrimas con ternura y gracias por haber depositado tus sueños en mí. Sabes tú eres la mejor mujer y madre que tiene este mundo, te amo.

Marco Rivera, oye gracias por haber estado ahí diciendo que cada día sea mejor, pues aquí estoy diciéndote lo logre gracias a ti, a tu amor, a tus consejos, y apoyo, sabes para mí eres el mejor padre que una hija puede tener, te amo negrito.

Agredicimiento

Mi querido Doctor Ronny Flores, gracias por creer en mi desde el primer día que empecé a realizar mi tesis, por apoyarme con su conocimiento y amistad día a día.

Durante el transcurso de este tiempo hubo tiempos buenos y malos, a veces veía que el día de mi graduación era un sueño muy distante, sin embargo, estuvo ahí apoyándome, alzándome el ánimo; y ahora mi corazón late a mil por hora al pensar que el grado ya es el 6 de junio del 2013.

Gracias por su confianza entregada en mi, gracias por todo este tiempo y conocimiento compartido, gracias por guiarme hacia la obtención de mi sueño con perfección.



**UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
CARRERA DE QUÍMICA DE ALIMENTOS**



Yo, Evelyn Andrea Rivera Toapanta en calidad de autor del trabajo de investigación o tesis realizada sobre “EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD DE ESFERIFICACIÓN DE QUITOSANO COMO SUSTITUTO DE ALGINATO EN LA ELABORACIÓN DEL FALSO CAVIAR”, por la presente autorizo a la UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR, hacer uso de todos los contenidos que me pertenecen o de parte de los que contienen esta obra, con fines estrictamente académicos o de investigación.

Los derechos que como autor me corresponden, con excepción de la presente autorización, seguirán vigentes a mi favor, de conformidad con lo establecido en los artículos 5, 6, 8, 19 y demás pertinentes de la Ley de Propiedad Intelectual y su Reglamento.

Quito, a los 15 días de marzo del 2013.

Evelyn Rivera

C.I.: 1717656209



UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
CARRERA DE QUÍMICA DE ALIMENTOS



Por la presente, dejo constancia que he leído la Tesis presentado por la Srta. Evelyn Andrea Rivera Toapanta para optar por el título profesional Químico de Alimentos cuyo tema es **EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD DE ESFERIFICACIÓN DE QUITOSANO COMO SUSTITUTO DE ALGINATO EN LA ELABORACIÓN DEL FALSO CAVIAR**; la misma que reúne los requerimientos, y los méritos suficientes para ser sometido a evaluación por el Tribunal Calificador.

En la ciudad de Quito, a los 15 días del mes de marzo del 2013.



Dr. Ronny Flores

C.I. 1709556367



**UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
CARRERA DE QUÍMICA DE ALIMENTOS**



Quito, 28 de marzo del 2013

Señor:

Dr. Wilson Parra

DECANO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

Presente

Señor Decano:

El Tribunal encargado de calificar la Tesis “EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD DE ESFERIFICACIÓN DE QUITOSANO COMO SUSTITUTO DE ALGINATO EN LA ELABORACIÓN DEL FALSO CAVIAR”.

Presentada por: Evelyn Andrea Rivera Toapanta, estudiante de la Carrera de Química de Alimentos, luego del estudio y revisión correspondiente, resolvió:

APROBAR ☒ la Tesis con la Nota de: Veinte (20/20)

y autorizar para que la escriba definitivamente.

REPROBAR ☐ la Tesis.

En cuanto podemos informar.

Atentamente



Dr. Carlos Calderón
C.I. 170262929-4



Ing. Milene Díaz
C.I. 171127406-6



Dr. Ronny Flores
C.I. 170955636-7

CONTENIDO

	pág.
CAPITULO I , INTRODUCCIÓN	1
1.1 Planteamiento del Problema	1
1.2 Hipótesis del trabajo	1
1.3 Objetivos de la Investigación	2
1.3.1. Objetivo General	2
1.3.2 Objetivos Específicos	2
1.4 Importancia y Justificación de la Investigación.	2
CAPITULO II, MARCO TEÓRICO.....	4
2.1 Antecedentes	4
2.2 Fundamento Teórico	6
2.2.1 Gastronomía Molecular	6
2.2.1.1.1 Esferificación directa.....	8
2.2.1.1.2 Esferificación inversa	8
2.2.1.1.3 Forma de preparar	8
2.2.2 Quitina y Quitosano	9
2.2.2.1 Obtención de quitina y quitosano.....	10
2.2.2.2 Propiedades de la Quitina.....	11
2.2.2.3 Quitosano	11
2.2.2.4 Propiedades químicas del Quitosano.....	12
2.2.2.5 Aplicaciones del Quitosano.....	12
2.2.2.6 Hidrogeles de quitosano	14
2.2.2.7 Gelificación	16
2.2.2.8 Tripolifosfato de sodio (TPP) grado alimenticio.....	17
2.2.2.9 Peso Molecular Promedio Viscoso del Quitosano	18
2.3 Evaluación Sensorial del falso caviar de alginato y quitosano.....	20

2.3.1 Textura	20
2.3.2 Análisis Sensorial	21
2.3.2.1 Pruebas afectivas	21
2.3.2.2 Prueba de preferencia	21
2.3.2.3 Codificación de muestras	21
2.3.2.4 Interpretación de resultados.....	21
2.4 Fundamento Legal.....	21
CAPITULO III, METODOLOGÍA.....	22
3.1 Tipo de Investigación.....	22
3.2 Población y muestra	22
3.3 Diseño Experimental	22
3.3.1 Factores en estudio	22
3.3.2 Tratamientos.....	23
3.3.3 Análisis Estadístico	23
3.4 Técnicas e Instrumentos analíticos.....	26
3.4.1 Caracterización del quitosano.	27
3.4.1.1 Determinación del grado de desacetilación (GD)	27
3.4.1.2 Determinación de nitrógeno orgánico	27
3.4.1.3Espectroscopia infrarroja (IR)	28
3.4.1.4 Determinación del peso molecular promedio viscoso del quitosano	28
3.4.2 Formación de esferas de alginato y quitosano.....	29
3.4.2.1 Preparación de la solución de alginato.	29
3.4.2.2 Gelificación de alginato en cloruro de calcio.....	30
3.4.2.3.Preparación de las soluciones de quitosano.....	30
3.4.2.4 Gelificación de quitosano en tripolifosfato de sodio grado alimenticio.....	29
3.4.3 Caracterización de las esferas de alginato y quitosano	29
3.4.3.1 Determinación de la Textura.	29

3.4.3.2 Determinación de la densidad	30
3.4.3.3 Determinación del tamaño de la esfera.	30
3.4.3.4 Determinación de la estabilidad física.....	30
3.4.3.5 Análisis Sensorial. Prueba de preferencia	30
3.5 Equipos y Materiales	31
3.6 Reactivos	31
CAPITULO IV, RESULTADOS Y DISCUSIÓN	32
4.1 Determinación del grado de desacetilación (GD) quitosano.....	34
4.2 Determinación del contenido de nitrógeno orgánico.....	36
4.3 Espectroscopia infrarroja(IR).....	36
4.4 Determinación del peso molecular viscoso promedio de quitosano.....	38
4.5 Comparación de la densidad entre esferas de quitosano a diferentes concentraciones y entre esferas de quitosano con esferas de alginato.	37
4.6 Comparación de estabilidad entre esferas de quitosano a diferentes concentraciones y entre esferas de quitosano con esferas de alginato.	42
4.7 Comparación del tamaño entre esferas de quitosano a diferentes concentraciones y entre esferas de quitosano con esferas de alginato.	47
4.8 Comparación de la textura entre esferas de quitosano a diferentes concentraciones y entre esferas de quitosano con esferas de alginato.	52
4.9 Análisis Sensorial	57
CAPÍTULO V, CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	59
5.1 Conclusiones	59
5.2 Recomendaciones.....	60
BIBLIOGRAFÍA.....	61

LISTA DE TABLAS

	pág.
Tabla 2. 1: Composición química del cefalotórax del camarón	10
Tabla 2. 2: Propiedades Generales del Quitosano	13
Tabla 2. 3: Aplicaciones del Quitosano	15
Tabla 3. 1: Variables independientes y dependientes.....	23
Tabla 3. 3: Esquema del diseño experimental.....	24
Tabla 3. 4: Diferentes tratamientos para la formación de esferas de quitosano	25
Tabla 3.5: Técnicas e Instrumentos analíticos.....	26
Tabla 4. 1: Análisis de varianza para un DCA para la densidad de esferas de quitosano.....	38
Tabla 4. 2: Prueba de Duncan al 5% de significancia para la densidad de las esferas	39
Tabla 4. 3: Prueba de Duncan al 5% de significancia para la densidad de las esferas	39
Tabla 4. 4: Prueba de Duncan al 5% de significancia para la densidad de las esferas.....	40
Tabla 4. 5: Prueba de Dunnett al 5% de significancia para la densidad.....	41
Tabla 4. 6: Análisis de varianza para un DCA para la estabilidad de esferas de quitosano.....	43
Tabla 4. 7: Prueba de Duncan al 5% de significancia para la estabilidad de las esferas.....	44
Tabla 4. 8: Prueba de Duncan al 5% de significancia para la estabilidad de las esferas.....	44
Tabla 4. 9: Prueba de Duncan al 5% de significancia para la estabilidad de las esferas	45
Tabla 4. 10: Prueba de Duncan al 5% de significancia para la estabilidad de las esferas.....	45
Tabla 4. 11: Prueba de Dunnett al 5% de significancia para la estabilidad.....	46
Tabla 4. 12: Análisis de varianza para un DCA para el tamaño de esferas de quitosano	48
Tabla 4. 13: Prueba de Duncan al 5% de significancia para el tamaño de las esferas	49
Tabla 4. 14: Prueba de Duncan al 5% de significancia para el tamaño de las esferas	49
Tabla 4. 15: Prueba de Duncan al 5% de significancia para el tamaño de las esferas.	50

Tabla 4. 16: Prueba de Dunnett al 5% de significancia para el tamaño	51
Tabla 4. 17 : Análisis de varianza para un DCA para la textura de esferas de quitosano	53
Tabla 4. 18: Prueba de Duncan al 5% de significancia para la textura de las esferas	54
Tabla 4. 19: Prueba de Duncan al 5% de significancia para la textura de las esferas	54
Tabla 4. 20: Prueba de Duncan al 5% de significancia para el tamaño de las esferas	55
Tabla 4. 21: Prueba de Dunnett al 5% de significancia para la textura	56
Tabla 4. 22: Parámetros utilizados en la elaboración de las esferas.....	57
Tabla 4. 23: Resultados de la prueba de preferencia realizada por los jueces.....	58

LISTA DE FIGURAS

	pág.
Figura 2. 1: Esferas de tomate con alginato de sodio	8
Figura 2. 2: Sistema para la preparación de las perlas de Alginato de Calcio.....	9
Figura 2. 3: Estructura química de la Quitina	10
Figura 2. 4: Estructura química del Quitosano.....	11
Figura 2. 5: Estructura química del tripolifosfato de sodio (TPP)	17
Figura 2. 6 Interacción del quitosano con TPP. A) Desprotonación B) Enlace iónico cruzado.....	18
Figura 3. 1: Diagrama para la caracterización del quitosano.....	26
Figura 3. 2: Diagrama para la caracterización física de las esferas de quitosano.....	26
Figura 4. 1 Curva de titulación del quitosano. Volumen de NaOH 0.1 M vs pH.....	33
Figura 4. 2 : Primera derivada de la titulación de quitosano con NaOH 0.1M.	33
Figura 4. 3: Espectro de adsorción infrarrojo del quitosano	35
Figura 4. 4: Determinación de la viscosidad intrínseca.....	36
Figura 4. 5: Densidad de esferas de quitosano y alginato.	37
Figura 4. 6: Estabilidad de esferas de quitosano y de alginato.	42
Figura 4. 7: Tamaño de las esferas de quitosano y de alginato.	47
Figura 4. 8: Textura de las esferas de quitosano y de alginato.....	52

LISTA DE ECUACIONES

	pág.
Ecuación 2. 1: Viscosidad intrínseca	19
Ecuación 2. 2: Viscosidad relativa	19
Ecuación 2. 3: Viscosidad específica	19
Ecuación 2. 4: Ecuación de Mark-Houwink	20
Ecuación 3. 1: Ecuación del grado de desacetilación	27
Ecuación 3. 2: Ecuación del contenido de nitrógeno orgánico	28

LISTA DE ANEXOS

	pág.
Anexo 5. 1: Aditivos Alimentarios permitidos para consumo humano	64
Anexo 5. 2: Aditivos Alimentarios permitidos para consumo humano	65
Anexo 5. 3: Aditivos Alimentarios permitidos para consumo humano	65
Anexo 5. 4: Formato utilizado para la prueba de preferencia por los jueces	66
Anexo 5. 5: Análisis Químico de Agua mineral natural sin gas	67
Anexo 5. 6: Apéndice IV ., Tablas de distribución F.....	68
Anexo 5. 7: Tablas F (continuación del apéndice IV), para un nivel de significancia 5%	69
Anexo 5. 8: Valores de t múltiple para la prueba de Duncan.....	70
Anexo 5. 9: Valores de t múltiple para la prueba de Duncan. Continuación.	71
Anexo 5. 10: Apéndice II. Tabla de significancia para prueba de dos muestras.....	72
Anexo 5. 11: Comparaciones múltiples contra el mejor y pruebas de Dunnett.	73
Anexo 5. 12: Analizador de textura Brookfield, modelo CT3-4500.....	74
Anexo 5. 13: Calibrador para medición de tamaño.....	75
Anexo 5. 14: Equipo para determinación de viscosidad.	75
Anexo 5. 15: Esferas de quitosano 1%P/V.....	76
Anexo 5. 16: Esferas de quitosano 2%P/V.....	76
Anexo 5. 17: Esferas de quitosano 3%P/V.....	77
Anexo 5. 18: Esferas de alginato 0,8%P/V.	77
Anexo 5. 19: Falso caviar al 2%P/V de quitosano, sabor limón sobre babaroise.	78
Anexo 5. 20: Falso caviar de alginato (488) y quitosano (883) sobre babaroise.	78

LUGAR DONDE SE REALIZÓ LA INVESTIGACIÓN

El trabajo de investigación en su fase experimental, se llevó a cabo en los Laboratorios de Química Ambiental, Análisis de Alimentos e Instrumental de la Facultad de Ciencias Químicas, UCE.

RESUMEN DOCUMENTAL

La obtención de materiales alternativos, eficientes, de bajo costo y no contaminantes ha impulsado el interés científico y tecnológico para el estudio de polielectrolitos catiónicos naturales y su aplicación en los alimentos.

El objetivo de esta investigación se definió como la evaluación de la capacidad de esferificación del quitosano como sustituto del alginato en la elaboración de falso caviar, y cuya hipótesis se resume en comprobar si el quitosano puede o no sustituir al alginato.

La caracterización de la muestra de quitosano dio: grado de desacetilación 70,3 %NH₂, peso molecular viscoso promedio $4,40 \times 10^5$ g/mol y contenido de nitrógeno orgánico 6,98 %N. En el espectro infrarrojo de la muestra de quitosano aparecen los grupos funcionales característicos del biopolímero: la banda del grupo amino a 1652,146 cm⁻¹, la banda de los grupos OH a 3419,355 cm⁻¹ y para N-H a 3281,507 cm⁻¹. Así mismo, se apreció las bandas del grupo C-H a 2918,835 cm⁻¹, del grupo piránosico a 1152,882 cm⁻¹ y el grupo C-O-C a 1017,402 cm⁻¹.

Se establecieron cuatro variables para comparar las esferas de quitosano con las de alginato: concentración de quitosano al 2 y 3 % p/v; concentración de tripolifosfato de sodio al 0,5, 1 y 1,5 % p/v y tiempo de gelificación de 30, 60 y 90 min y, se determinó la densidad, estabilidad, tamaño y textura de las esferas. Como control se utilizó esferas de alginato al 0,8 % p/v y un min de gelificación. Las esferas de quitosano al 1% p/v fueron muy frágiles, de forma irregular y poco estables, las esferas de quitosano al 2 % p/v tuvieron apariencia agradable, encerraban líquido en su interior y fueron estables. Las esferas de quitosano al 3% p/v, presentaron un adecuado tamaño, textura y estabilidad, pero, no encerraban líquido en su interior.

En general, las esferas de quitosano fueron similares al control de alginato, en densidad, estabilidad y textura, sin embargo, en tamaño fueron estadísticamente diferentes. Adicionalmente, se realizó una prueba de preferencia de las esferas de quitosano al 2 %p/v frente a las esferas de alginato al 0,8% p/v y se definió que no existió una preferencia significativa entre una u otra por parte de los jueces.

Palabras clave: QUITOSANO, ALGINATO, GASTRONOMÍA MOLECULAR, ESFERIFICACIÓN, FALSO CAVIAR, TEXTURA DE LOS ALIMENTOS.

ABSTRACT

Obtaining alternative efficient materials that are inexpensive and clean, drives scientific and technological interest for the study of natural cationic polyelectrolyte and its application in food.

The objective of this study was defined as the capacity evaluation spherification of chitosan as a substitute in the preparation of alginate false caviar, and hypothesis which is summarized in the chitosan ability or not to replace the alginate.

To characterize the chitosan sample, it was determined that the deacetylation degree was 70.3% NH_2 , viscosity average molecular weight was 4.40×10^5 g/mol, organic nitrogen content was 6.98% N. The infrared spectrum of the sample are characteristic functional groups the biopolymer, the band of the amino group at 1652.146 cm^{-1} band of the OH groups at 3419.355 cm^{-1} and for NH at 3281.507 cm^{-1} . Additional bands sampled were CH group to 2918.835 cm^{-1} , piranosic group to 1152.882 cm^{-1} and the group COC at 1017.402 cm^{-1} .

Four variables were established to compare the spheres of alginate with chitosan: chitosan concentration of 2 and 3% w/v, sodium tripolyphosphate concentration of 0.5, 1 and 1.5 %w/v gelation time 30, 60 and 90 min.; and determined density, stability, texture and size of the spheres. As control were used alginate spheres 0.8 %w/v, 1 min of gelation. Chitosan spheres 1 %w/v were very fragile, of irregular and unstable shape. Chitosan spheres 2 %w/v looked nice; they enclosed liquid inside and were stable. Chitosan spheres 3 %w/v, presented a suitable size, texture and stability, but they didn't enclose inside liquid.

Generally chitosan spheres were similar to the control of alginate, density, stability and texture, but they were statistically different in size.

Additionally, there was a preference test of chitosan spheres 2 %w/v against alginate spheres of 0.8 %w/v and it was determined that there wasn't significant preference between the spheres by the judges.

Keywords: CHITOSAN, ALGINATE, MOLECULAR GASTRONOMY, SPHERIFICATION, FAKE CAVIAR, FOOD TEXTURE.

CAPITULO I

INTRODUCCIÓN

1 .1 Planteamiento del Problema

La creciente demanda de alimentos de alta calidad y con larga vida de anaquel, en conjunto con el reclamo ambiental de reducir desperdicios sólidos de las industrias camaroneras ha hecho que se busquen alternativas más viables para solucionar esta problemática como el desarrollo de materiales biodegradables con propiedades funcionales y que ofrezcan costos competitivos frente a los materiales actualmente utilizados.

Investigaciones realizadas en los últimos años demuestran que estos residuos albergan un biopolímero natural denominado quitina, sustancia que tiene aproximadamente 200 usos en la industria alimenticia, medicinal, farmacéutica agrícola, tratamiento de efluentes, entre otras (Caprile, 2011).

En la cocina molecular, se utiliza alginato de sodio que al entrar en contacto con una sal de calcio gelifica instantáneamente en forma de esferas. Pero el uso del alginato presenta desventajas: es incompatible con algunos alimentos, reduce las características organolépticas del producto terminado, deja residuo al masticar, ocasionalmente produce gelificaciones no deseadas y aumenta los costos de producción.

El quitosano no se ha usado en la elaboración del falso caviar, por lo expuesto, surge la necesidad de buscar un uso a los residuos del camarón probándolos como reemplazo del alginato de sodio en la cocina molecular.

1.2 Hipótesis del trabajo

El quitosano puede ser utilizado como sustituto de alginato en la obtención de esferas de falso caviar empleado en la cocina molecular.

1.3 Objetivos de la Investigación

1.3.1. Objetivo General

- Evaluar la capacidad de esferificación del quitosano con tripolifosfato como sustituto de alginato en la cocina molecular.

1.3.2 Objetivos Específicos

- Caracterizar física y químicamente el quitosano comercial para determinar su grado de desacetilación, peso molecular viscoso promedio y contenido de nitrógeno orgánico.
- Identificar los grupos funcionales del quitosano mediante espectroscopia infrarroja.
- Realizar ensayos de formación de esferas variando las concentraciones de quitosano, tripolifosfato y tiempo de gelificación.
- Caracterizar las esferas de quitosano de acuerdo a su textura, densidad y tamaño de la esfera.
- Determinar, por observación, la estabilidad física de las esferas de quitosano para estimar su tiempo de vida útil.
- Comparar las propiedades físicas de las esferas de quitosano con las de alginato para evaluar su similitud.

1.4 Importancia y Justificación de la Investigación

La obtención de materiales alternativos, eficientes, de bajo costo y no contaminantes impulsa el interés científico y tecnológico para el estudio de biopolímeros naturales y su aplicación en los alimentos.

El quitosano constituye una excepción industrial y comercial para los actuales hidrocoloides o polisacáridos de alto peso molecular que en su mayoría son neutros o polianiónicos, ya que es uno de los pocos polielectrolitos catiónicos. Lo que ofrece una gran variedad de aplicaciones potenciales.

El quitosano posee excelentes propiedades como ser: antifúngico, antivirósico, biocompatible, biodegradable, antimicrobiano, no tóxico, adsorbente de metales contaminantes, que hacen que sea considerado de gran aplicación en distintos campos de la industria (Caprile, 2011). El uso

de quitosano tiene gran potencial en la industria alimenticia debido a sus excelentes propiedades como emulsificante, espesante, estabilizante, espumante, ligante, quelante, humectante, como coayudante en la fabricación y texturización de proteínas solubles, como coadyudante en la extensión de la vida de anaquel de encurtidos y como material de empaque biodegradable.

El quitosano, también, podría ser utilizado en la cocina molecular. La cocina molecular consigue reemplazar distintos ingredientes en los alimentos preparados y proporcionar la misma respuesta química que con los ingredientes originales pero con nuevos sabores. Las posibilidades del uso de nuevas sustancias parecen hacerse infinitas en la cocina moderna. Existen nuevas texturas, presentaciones e ingredientes como el nitrógeno líquido, helio, alginato sódico, hasta se habla de métodos de cocción con rayo láser.

La cocina molecular ha sido utilizada por los grandes cocineros para proporcionar a los comensales distintos sabores y texturas que embriagan los paladares, sus aplicaciones son variadas pudiéndose elaborar con resultados más saludables e incluso dietéticos (Hernández, 2010). Sin embargo, no se ha analizado el uso del quitosano en la cocina molecular.

Es por eso que investigar la aplicación del quitosano como potencial formador de hidrogeles alimenticios en forma de esferas conocidas como falso caviar, además, de ayudar al desarrollo de la cocina molecular; ayudará a solventar parte de los efectos ambientales de los desechos del camarón (Hernández, 2010).

CAPITULO II

MARCO TEÓRICO

2.1 Antecedentes

El 14 de Marzo de 1969, el físico inglés de origen húngaro, miembro de la Universidad de Oxford, Nicholas Kurti, realizó una conferencia para la Sociedad Real denominada “El físico en la Cocina”. Inició su conferencia con la frase: “Pienso con una profunda tristeza sobre nuestra civilización, mientras medimos la temperatura en la atmósfera de Venus, ignoramos la temperatura dentro de nuestros soufflés.” Lo que dio origen a un estudio sistemático y científico que pretende revelar las reacciones tanto químicas como físicas que se producen durante la cocción de los alimentos. Después de muchos años de arduo trabajo, el químico francés Herve This se suma a la investigación y trabajo de Nicholas Kurti y en el año 1988, su obra da origen a una nueva ciencia: “La Gastronomía Molecular”(Hernández, 2010).

Ambos científicos basaron sus investigaciones en averiguar algo poco usual en la reflexión de cualquier persona que cocina alimentos, ellos querían saber qué es lo que ciertamente pasa dentro de una cacerola cuando se preparan macarrones, descubrir cuál es la razón por la que un brócoli pierde su vivo color verde cuando se somete a un proceso de cocción y comprobar el hecho de que la especie más pequeña es en realidad un sistema bioquímico muy complejo. Estas investigaciones han permitido comprender mejor las reacciones tanto químicas como físicas de los alimentos, entender cómo funciona el sentido del gusto, innovar la tecnología culinaria, invención de nuevos equipos, lograr nuevas texturas y consistencias, utilizar mejor un alimento al conocer sus propiedades químicas y físicas. Posteriormente, Ferrán Adrià, Heston Blumenthal, Homaro Cantú y muchos otros han combinado esta ciencia con nuevos ingredientes, equipos y técnicas (Hernández, 2010) lo que ha desarrollado dos premisas:

El conocimiento científico de los fenómenos culinarios debe complementarse con el conocimiento adquirido a través de la práctica.

El aprendizaje y conocimientos adquiridos deben respaldarse mediante antropólogos, sociólogos e historiadores.

Hoy en día, para preparar alimentos, se utilizan las mismas técnicas y métodos que existen desde hace muchos años, de hecho, en las universidades y escuelas de gastronomía, se siguen impartiendo los mismos conocimientos que se adquirieron de manera empírica y desde hace cientos de años y

que carecen de métodos y procesos. La Gastronomía Molecular lleva a comprender y mejorar las técnicas ya existentes, haciendo uso adecuado de los diferentes procesos de cocción, conservando los nutrientes de cada uno de los alimentos y llevando al extremo el sabor para convertirlo en una verdadera complacencia al paladar (Hernández, 2010).

De otra parte, la necesidad de dar una respuesta a la creciente concentración de desperdicios de la industria camaronera, ha estimulado las investigaciones en torno a la extracción de quitina, sus propiedades, derivados y aplicación potencial como polímero natural.

La primera extracción de quitina se hizo en 1911 por Braconnot. En los años 1930 se realizaron investigaciones acerca de este polímero y se registraron cincuenta patentes de procesos de aplicación, pero los altos costos y la mejor perspectiva de uso de los polímeros sintéticos lo relegaron. No obstante, en 1970 el reglamento para el medio ambiente en los Estados Unidos prohibió arrojar los desechos de productos marinos a las aguas costeras, lo que impulsó una vez más la búsqueda de aplicaciones y el aprovechamiento de estos recursos.

Recientes investigaciones han establecido nuevas formas de utilizar la quitina y, su derivado, el quitosano, en otro tiempo considerados sin valor, en una sorprendente gama de productos que impactan fuertemente a la industria de producción de alimentos, cuidado de la salud y protección del ambiente (Caprile, 2011).

Nanopartículas de quitosano y tripolifosfato de sodio (TPP), han sido utilizadas como vehículos para la administración de macromoléculas terapéuticas a través de mucosas, como ejemplo, el transporte de insulina a través de la mucosa nasal; son de destacar en estos sistemas tanto la capacidad para proteger macromoléculas bioactivas frente a la degradación, como la habilidad para transportarlas a través de las barreras de las mucosas. En consecuencia, su aplicación se ha enfocado al desarrollo de nanovehículos aptos para la administración por vías no invasivas, tales como las mucosas ocular, nasal y oral (Goycoolea, Remuñán & Alonso).

El quitosano se ha utilizado ampliamente en la industria de alimentos y está aprobado como aditivo en Japón. Se comercializa en Europa, EUA y en otros países como un atrapador de grasa en formulaciones para reducir el colesterol y el sobrepeso (Goycoolea, Remuñán & Alonso, 2006). A continuación se revisan algunas investigaciones relacionadas con el tema.

Optimización del proceso de adsorción de plomo para el tratamiento de aguas sobre quitosano

En este estudio se consideró la utilización de caparazones de camarón para la extracción de quitina a través de hidrólisis ácida y básica. Con el quitosano obtenido se realizaron dos modificaciones para determinar el material adsorbente de mayor eficiencia para la remoción de plomo. Se ensayó esferas de quitosano reticulado con glutaraldehído y quitosano con nitrato férrico. Se demostró que las esferas de quitosano–gutaraldehído son un adsorbente eficientemente para el tratamiento de plomo en agua (Dávila, 2010).

Evaluación de la goma tara como sustituto del alginato en la técnica de esferificación aplicada en la cocina molecular

Se determinaron cuatro variables: consistencia, densidad, tamaño y estabilidad física del falso caviar. Para elaborar las esferas se utilizó concentraciones de goma tara de: 1,0; 1,5 y 2,0 %p/v; volúmenes de whisky de: 0,10, 30 y 50 ml y tiempo de gelificación de: 90, 180 y 300 seg. Los resultados obtenidos mostraron que las esferas de goma tara al 1,0% fueron muy frágiles, de apariencia desagradable y poco estables. Las esferas de goma tara al 1,5% tuvieron buena apariencia, encerraron líquido en su interior y fueron poco estables. Las esferas de goma tara al 2,0 % presentaron una adecuada consistencia y apariencia, sin embargo, estas no encerraron líquido en su interior y fueron poco estables. En conclusión, las esferas de goma tara tuvieron características diferentes a las de alginato (Flores, 2011).

No se tiene conocimiento de trabajos que investiguen el uso de quitosano en la cocina molecular.

2.2 Fundamento Teórico

2.2.1 Gastronomía Molecular

La Gastronomía Molecular es la aplicación de la ciencia a la práctica culinaria y más concretamente al fenómeno gastronómico. Tiene relación con las propiedades fisicoquímicas de los alimentos y los procesos tecnológicos a los que estos se someten como son el batido, la gelificación, el aumento de viscosidad, etc (Hervé, 2006).

Todo ello va a depender de los ingredientes que se seleccionen, las mezclas que se hagan entre ellos y las técnicas que se apliquen.

También puede definirse gastronomía molecular como la aplicación de principios científicos a la comprensión y desarrollo de la preparación de las cocinas domésticas (Barham, 2010).

Entre las mayores innovaciones de esta tendencia están:

- Espumas: Con la ayuda de un sifón puede lograrse que alimentos como verduras, quesos o frutas obtengan una textura similar al de un mousse, pero sin el agregado de otros productos, lo que hace que los sabores y aromas se mantengan intactos y mucho más suaves.
- Gelatinas calientes: Estas gelatinas son extraídas de algas que se encuentran en su mayoría en mares del sur de África. Se caracterizan por soportar altas temperaturas de cocción, lo que permite que se mantengan calientes y en estado sólido (Hervé, 2006).
- Aires: Los aires o humos son simplemente agregados que sirven para llevar al plato un determinado aroma. Se los ve sobre la comida en forma de burbujas encadenadas o a veces en globos que dejan escapar sus aromas antes de ser probados (McGee, 2004).
- Cocina al vacío: En esta nueva forma de cocción de alimentos son puestos en bolsas, cerrados al vacío y cocinados en agua durante un tiempo y a una temperatura determinada (McGee, 2004).
- Criococina o cocina con nitrógeno líquido: A partir del uso del nitrógeno líquido se logran congelaciones prácticamente instantáneas que evitan la formación de cristales de hielo y permiten texturas realmente sorprendentes (McGee, 2004).
- Cocción interna: Se trata de una parrilla dotada de asas sobre la que se distribuyen varias hileras de puntas de acero, lo cual permite una cocción que evita la pérdida de jugos y nutriente de las carnes.

2.2.1.1 Esferificación

La esferificación es una gelificación controlada de un líquido que, sumergido en un recipiente conteniendo una solución de sales de calcio, forma pequeñas esferas con alimento líquido en su interior, y puede ser servido de las maneras más insólitas (Prat, 2011), por ejemplo el "caviar" de tomate. Ver Figura 2.1. Con la esferificación desea imitarse una forma, y textura, muy similar a las huevas de pescado, para que, con el encapsulamiento los sabores aparezcan repentinamente en la boca, como pueden ser vinos, zumos de frutas o verduras. El propósito de la esferificación es modificar las propiedades texturales de los alimentos para así desarrollar nuevas sensaciones en el comensal (Corell et al., 2007).

Se diferencian dos procesos de esferificación:

2.2.1.1.1 Esferificación directa

La esferificación se lleva a cabo mezclando el líquido alimenticio con alginato de sodio y dejándolo gotear sobre una disolución fría de cloruro de calcio o carbonato de calcio (Triplenlace, 2012).

2.2.1.1.2 Esferificación inversa

Sí el líquido que se desea esferificar ya contiene calcio, se sumerge en una disolución de alginato para producir las esferas. Pero si el líquido no posee calcio se le añade gluconolactato de calcio y se procede de igual forma.

En ambos casos lo que se obtiene es una gota de líquido contenida dentro de una delgada membrana esférica (Triplenlace, 2012)



Figura 2. 1: *Esferas de tomate con alginato de sodio*
Nota: (Valverde, 2009)

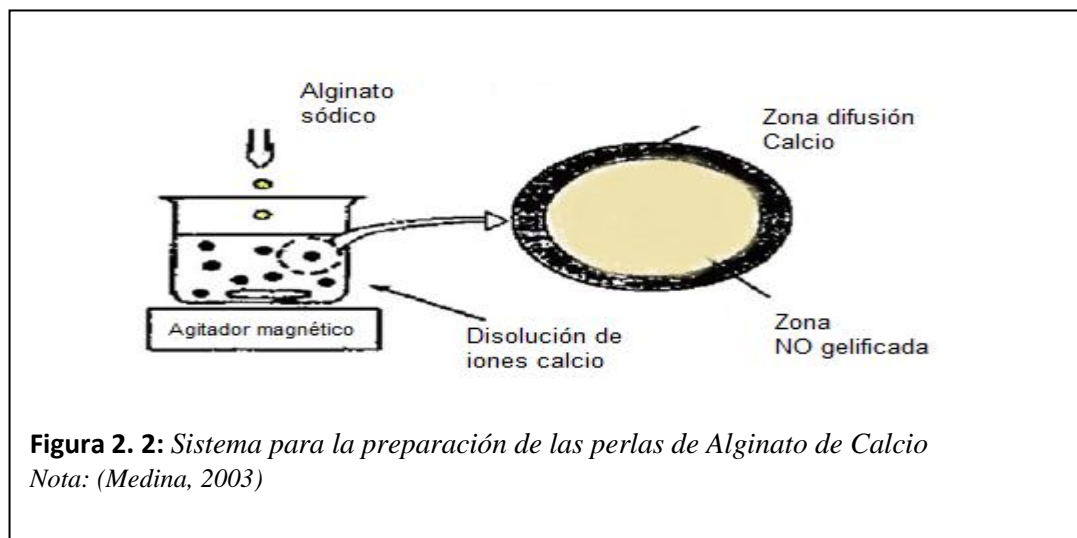
2.2.1.1.3 Forma de preparar

La elaboración de falso caviar de alginato consiste en disolver el alginato de sodio (E- 401)¹ en el zumo que se desea preparar, por una parte, mientras se elabora una disolución de cloruro de calcio (E-509)² en agua, por otra y se vierte el alginato sobre la solución de calcio, como se observa en la Figura 2.2 Los alginatos forman un complejo insoluble con el calcio, a manera de una malla semi-rígida constituida por enlaces químicos, en el cual, los iones calcio se sitúan como puentes entre los grupos carboxilo del ácido gulurónico del alginato, obteniéndose geles estables en el tiempo y resistentes a la temperatura. Durante la gelificación se generan esferas de diferentes tamaños constitui-

¹E- 401, la E significa el número de identificación de los aditivos alimentarios; y, los que están en el rango de 400 - 445 significa gelificantes, estabilizantes y espesantes.

²E- 509, aditivo alimentario, estabilizante.

das por una membrana gelatinosa en la parte externa que encierra en su interior el mismo producto pero en estado líquido. El alginato de calcio debe poseer una acidez lo más cercana a pH 6 para que gelatinice. En algunas ocasiones se acidifica artificialmente el líquido empleando citrato de sodio (E-331)³. A veces se produce el mismo efecto mediante el empleo de goma xantana o agar-agar (E - 406) (Hervé, 2006).



2.2.2 Quitina y Quitosano

La quitina es el segundo polisacárido más abundante en la naturaleza después de la celulosa, encontrándose ampliamente distribuida en el exoesqueleto de los crustáceos como cangrejos, camarones y en menor cantidad en la pared celular de hongos, bacterias, levaduras, insectos y otros organismos. En los animales aparece asociada a otros constituyentes, tales como lípidos, colorantes, carbonatos y proteínas.

La estructura molecular de la quitina presenta similitudes con la de celulosa; la diferencia entre sus cadenas radica en el segundo carbono, el cual presenta un grupo acetamida en la quitina y un grupo hidroxilo en la celulosa. La presencia de los grupos acetamida hace de este biopolímero fácilmente modificable tras diversos tipos de reacciones (Soro, 2007). Ver Figura 2.3.

³E-331, aditivo alimentario, antioxidante.

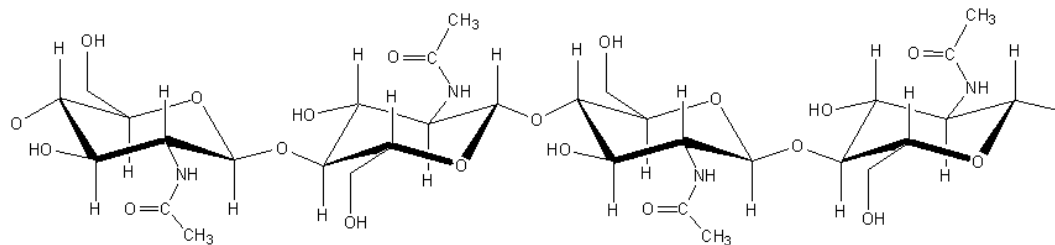


Figura 2. 3: Estructura química de la Quitina

Nota:(Flores, 2008)

2.2.2.1 Obtención de quitina y quitosano

La materia prima que se utiliza para la obtención de quitosano es la cáscara de camarón. En el Ecuador la especie de camarón *PenaeusVannamei* es la que comúnmente más se cultiva.

El cefalotórax del camarón está constituido por quitina, proteínas, pigmentos y cenizas con un alto porcentaje de calcio, magnesio y fósforo (ver Tabla 2.1).

Tabla 2. 1: Composición química del cefalotórax del camarón

COMPONENTE	PORCENTAJE (%)
Quitina	17-32
Proteína	17-42
Pigmentos	1-14
Cenizas	41 -46

Nota: (Baxter, 2004)

La quitina es fácil de obtener del exoesqueleto de camarones o cangrejos, para ello se requiere un tratamiento químico con el fin de remover los pigmentos, las sales tales como el carbonato de calcio y las proteínas que se encuentran asociadas con ella. La obtención de quitosano se realiza por medio de un tratamiento con álcali concentrado y caliente, con el fin de retirar la mayor cantidad de unidades de acetilo de la estructura del polímero.

2.2.2.2 Propiedades de la Quitina

La quitina es completamente insoluble en agua o en medio ácido, está compuesta por amino azúcares unidos entre sí por enlaces glicosídicos β (1 \rightarrow 4) formando una cadena lineal de unidades de N-acetil-2-amino-2-desoxi-D- glucosa.

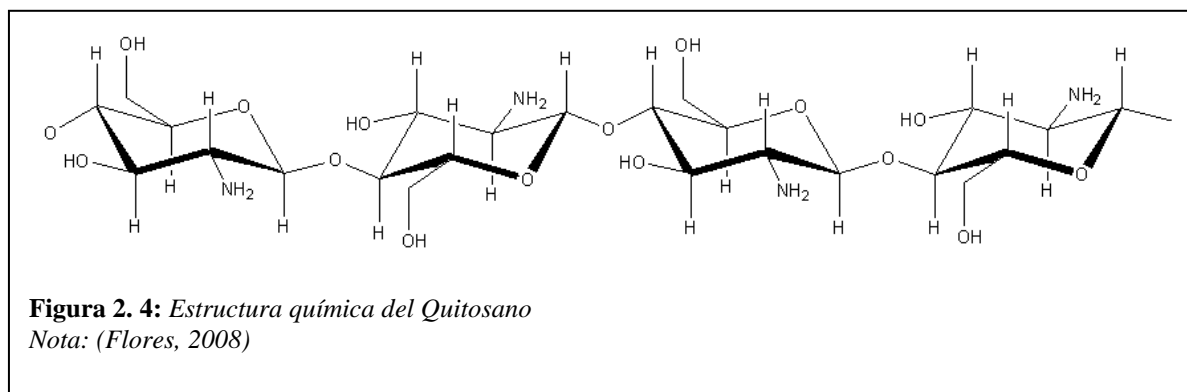
La desacetilación completa de la quitina produce un material completamente soluble en medio ácido conocido como quitano. Sin embargo, si la desacetilación es incompleta se obtiene una mezcla de cadenas que tienen distintas proporciones al azar de β (1 \rightarrow 4)-2-acetomido-2-desoxi-D-glucosa y β (1 \rightarrow 4)-2- amino- 2-desoxi-D-glucosa, cuya relación depende de las condiciones de reacción generando materiales con distintas propiedades denominados “quitosanos”.

2.2.2.3 Quitosano

El término quitosano fue utilizado por primera vez por Hoppe – Seyer en 1984 basándose en los estudios de Rouget de 1859 quien descubrió que si la quitina es tratada con un álcali caliente se genera un producto soluble en ácidos orgánicos (Soro, 2007).

Este compuesto es la forma N-desacetilada de la quitina de la que se obtiene tras sustituir los grupos acetamida por grupos amino. Este polisacárido está compuesto por dos tipos de unidades estructurales distribuida de manera aleatoria a lo largo de la cadena, la N-acetil-D-glucosamina y la D-glucosamina, las cuales se encuentran unidas por enlaces del tipo β (1 \rightarrow 4) glicosídicos. Cabe destacar que estas unidades se distribuyen a lo largo de la cadena polimérica, por lo que el quitosano es un polímero al azar.

La diferencia de las propiedades de estos materiales puede llegar a ser notable; mientras mayor sea el grado de desacetilación se obtendrán mayores centros reactivos, los cuales están dados por el grupo amino e hidroxilo (Ver Figura 2. 4).



2.2.2.4 Propiedades químicas del Quitosano

El peso molecular del quitosano varía entre 1×10^5 a $2,5 \times 10^6$ Da, con un pKa aproximado de 6,3 (Ravi, 2000). Es insoluble en agua, en ácidos concentrados, bases y los solventes orgánicos comunes, pero es soluble en ácidos minerales y orgánicos diluidos.

La solubilización del quitosano se produce vía protonación de su grupo amino libre. En ambientes ácidos permanece en solución hasta un pH cercano a 6,2 después del cual comienza a formar precipitados similares a geles hidratados (Chenite et al, 2000). Cuando se solubiliza en ácido diluido funciona como un polímero catiónico de estructura lineal con una alta densidad de carga positiva, esta carga puede ser aplicada en procesos de floculación, en la formación de capas e inmovilización de reactivos biológicos incluyendo enzimas.

El quitosano puede ser modificado químicamente con el fin de alterar sus propiedades físicas y químicas. Es posible la modificación química del grupo amino y de los hidroxilos primario y secundario.

Las modificaciones posibles incluyen su entrecruzamiento, eterificación, esterificación y copolimerización y debido a esta versatilidad ha encontrado muchas aplicaciones tecnológicas y biomédicas, las que incluyen la ingeniería de tejidos y esto debido a su biocompatibilidad, baja toxicidad y biodegradación (Caprile, 2011). Ver Tabla 2. 2.

2.2.2.5 Aplicaciones del Quitosano

Las ventajas del uso de estos polímeros es su condición de aditivo natural. No tóxico y biodegradable. A continuación se comenta algunas de las áreas en la que son utilizados.

2.2.2.5.1 Alimentos

En el campo de los alimentos y bebidas, el quitosano se lo utiliza como aditivo. Ya sean estos espesantes (proporcionando mayor viscosidad al producto), gelificantes (debido a que precipita a un pH superior a 6), estabilizando emulsiones y como agente preservante (utilización en productos de panificación por su acción antifúngica y antibacteriana).

Tabla 2. 2: Propiedades Generales del Quitosano

Propiedades químicas	Propiedades en solución	Propiedades biológicas
Poliamina Lineal (poly-D-glucosamina)	Soluble en pH< 6.5 Insoluble a pH> 6.5	Biocompatible
Grupos aminos reactivos	Forma soluciones viscosas	Biodegradable
Grupos hidroxilo reactivos disponibles	Gelificante con policationes	No tóxico
Forma quelatos con muchos iones metálicos de transición.	Solubles en mezclas de alcohol – agua	Terapéutico.
Fuerte afinidad con polianiones		

Nota: (Soro, 2007)

Adicionalmente el quitosano se utiliza como recubrimiento protector de frutas y hortalizas. Las películas de quitosano son resistentes, duraderas y flexibles incidiendo directamente en la vida útil del producto. De esta manera estas películas minimizan la velocidad de respiración y pérdida de agua de la fruta o el vegetal.

La quitina y el quitosano han sido aprobados para potabilizar agua por la Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos (EPA). También han sido aprobados por la FDA y EPA para su uso como agentes precipitantes de materiales proteicos durante el procesado de alimentos.

El quitosano de baja viscosidad aumenta enormemente las propiedades espumantes de proteínas como la albúmina de huevo y el suero de leche, porque ayuda a las moléculas de proteína de superficie activa a adherirse, para de esa manera formar una película protectora altamente flexible alrededor de las burbujas de aire. Este sistema espumante es efectivo aun si hay lípidos presentes (McGee, 2004).

El quitosano no es digerible por los humanos y por consiguiente actúa como fibra dietética, componente esencial en la dieta. Además, se ha demostrado que inhibe la adsorción de otros lípidos. En este sentido posee un valor calórico nulo (Pastor de Abram, 2004). El quitosano está siendo probado como aditivo en la alimentación de rumiantes. Los resultados obtenidos son prometedores con respecto al potencial del quitosano para manipular la fermentación ruminal con el objetivo de mejorar la eficiencia alimentaria y la utilización de nutrientes de los rumiantes, por lo que si estas mejoras se

traducen en términos productivos el quitosano podría representar una alternativa efectiva a los antibióticos promotores de crecimiento en rumiantes (Goiri, 2010).

2.2.2.5.2 Agricultura

Ya que el quitosano es un compuesto que se encuentra en la naturaleza, su uso en la agricultura no tiene ninguno efecto residual o tóxico que a veces se da con productos químicos sintéticos. Los usos en agricultura de materiales quitinosos comprenden revestimiento de semillas y tratamiento antine-mátodo de la tierra.

2.2.2.5.3 Ambiental

El principal uso del quitosano ha sido como un agente floculante para clarificación de efluentes industriales y otros productos de desecho, por ejemplo, residuos de cervecería, aguas residuales de plantas procesadoras de pescado, y como quelante de contaminantes ambientales (metales pesados y/o reactivos).

El quitosano es capaz de llevar a cabo estas acciones debido a que la estructura está cargada positivamente, pudiendo combinarse con biomoléculas cargadas negativamente o formar complejos con metales, los cuales entonces floculan y son separados por filtración, centrifugación o prensado.

El quitosano mejora la estabilidad de una emulsión aceite en agua. El quitosano es un emulsionante catiónico que produce una separación entre gotas de aceite. De tal manera que las gotas se cargan eléctricamente en su superficie, siendo esta carga del mismo signo para todas las gotas la repulsión electrostática impide que se una entre sí (Soro, 2007).

2.2.2.5.4 Cosmetología

El quitosano es un excelente humectante por su alta capacidad de retener humedad, debido a esto se ha aplicado en productos fijadores del cabello (por ejemplo shampoo, acondicionador, lociones fijadoras etc.). La concentración de sales de quitosano (aproximadamente 1%) requeridas para estos usos es comparativamente más bajas que la de resinas convencionales (aproximadamente 3%). También se sugiere el uso de quitina o quitosano granular como un abrasivo para limpieza de la piel, existen patentes de estos biopolímeros para su uso en tratamientos contra celulitis. En la Tabla 2. 3 se resumen algunas aplicaciones del quitosano.

2.2.2.6 Hidrogeles de quitosano

El nombre hidrocoloides engloba a sustancias naturales poliméricas solubles o dispersables en agua. Por esta razón se les puede considerar como fibras solubles. Aunque en este grupo también se in-

cluye a los almidones o algunas proteínas como gelatina. Generalmente, el término hidrocoloide se aplica a sustancias de composición polisacárida. De forma coloquial se les denomina con el nombre de gomas (Sánchez, Sibaja, Vega & Rojas, 2007).

Este grupo de sustancias de origen diverso tienen una gran importancia tecnológica en la industria de los alimentos debido a sus propiedades funcionales. Como característica principal y común se puede destacar que son sustancias altamente hidrofílicas que actúan donde el agua se encuentra libre dependiendo del medio donde se aplican, llegando a reducir su movilidad y aumentando su viscosidad. En este sentido la estructura del polímero es de gran importancia ya que de ella depende la retención de agua y por tanto las características reológicas y de textura que impartirá al producto acabado (Hernández, Águila, Flores, Viveros, & Ramos, 2009).

Tabla 2. 3: Aplicaciones del Quitosano

Campo de Aplicación	Usos
Tratamiento de aguas y efluentes industriales	Remoción de iones metálicos y pesticidas, recuperación de materiales sólidos de la industria alimenticia (proteínas, polisacáridos, etc.).
Fabricación de papel	Tratamiento de superficies, papel fotográfico.
Medicina	Gasas, algodón, contenedor artificial de sangre, control de colesterol, inhibidor tumoral, membranas, inhibición de placas dentarias, cicatrización de heridas, piel artificial, tratamientos de enfermedades óseas, lentes de contacto, membranas de diálisis, bolsas de sangre anticoagulante.
Cosmética	Maquillaje, esmalte de uñas, loción de baño, cremas dentífrico.
Bioteología	Inmovilización de enzimas y células, separación de proteínas, cromatografía, recuperación celular.
Agricultura	Recubrimientos de semillas y frutas, fertilizante fungicida.
Alimenticia	Remoción de colorantes, conservantes, estabilizante de color, exaltador del sabor natural, preservante, emulsionante, aditivo de alimentos para animales. Películas antimicrobianas, clarificación de jugos y vinos, encapsulación de nutraceuticos, floculante de efluentes.

Nota: (Caprile, 2011)

Los hidrogeles son redes poliméricas entrecruzadas que se hinchan en agua o fluidos biológicos. Estos hidrogeles pueden absorber hasta mil veces su peso seco en agua (Sánchez, Sibaja, Vega & Rojas, 2007).

Los hidrogeles se clasifican en químicos y físicos. Dentro de los químicos están:

1. Hidrogeles formados solamente por el polímero y un agente entrecruzante.
2. Los denominados hidrogeles híbridos, en los que el agente entrecruzante enlaza cadenas de polímero diferentes.
3. Los retículos semi -o-completamente interpenetrados.

Es importante ajustar las reacciones de entrecruzamiento porque estas determinan el grado de entrecruzamiento a obtener. Este último es un parámetro importante que influye en propiedades interesantes de los hidrogeles, como son la liberación controlada de fármacos y la fuerza mecánica.

2.2.2.7 Gelificación

Se define como gel a la formación de masas semisólidas que engloban agua dentro de una red o malla tridimensional formada por el establecimiento de puentes de unión entre moléculas en zonas determinadas de cristalinidad (Cubero, Monferrer, & Villalta, 2002). El número de uniones que se establezcan y su rigidez son los factores de la dureza del gel y de su posible reversibilidad. Las zonas de unión se dan por acoplamientos de diferentes moléculas y se ven favorecidas por una configuración espacial similar.

Se puede considerar que la gelificación se produce en dos tiempos: un primer tiempo de solubilización de las moléculas y un segundo tiempo donde se establecen las uniones entre las moléculas ya solubilizadas. Este segundo proceso de formación de enlaces intermoleculares suele ocurrir durante el enfriamiento de la solución o por acción de un agente entrecruzante (por ejemplo, iones divalentes en la moléculas aniónicas).

Uniones moleculares (Cubero, Monferrer, & Villalta, 2002)

- **Configuración de doble hélice**

La configuración lineal de la molécula permite la formación de dobles hélices estabilizadas mediante puentes de hidrógeno que se destruyen al elevar la temperatura y que hacen al gel termorreversible.

- **Configuración “caja de huevos”**

Es la que forman los alginatos y las pectinas débilmente metiladas a través de la interacción de los iones de calcio intercalados en las zonas plegadas de una forma regular de la macromolécula. Según la cantidad de iones calcio y la longitud de las zonas cristalinas, el gel será termorreversible o no.

- **Configuración mixta**

Se produce cuando moléculas que no son gelificantes pueden asociarse con otras diferentes gracias a las posibilidades de acoplamiento. En el caso de las macromoléculas de xantana que no forman hélices reticuladas, pero que se pueden acoplar a las zonas regulares sin ramificaciones de la goma garrofín o en el caso de esta investigación el quitosano que en contacto con el tripolifosfato de sodio genera una estructura gelificada.

2.2.2.8 Tripolifosfato de sodio (TPP) grado alimenticio

El tripolifosfato de sodio (TPP) es una sal sódica del ácido trifosfórico que tiene el aspecto de polvo cristalino blanco (ver Figura 2.5). No tiene olor y es soluble en agua. Entre sus muchos usos, está como un aditivo, texturizador en alimentos, aglutinante y agente preservante (Bhumkar & Pokharkar, 2006).

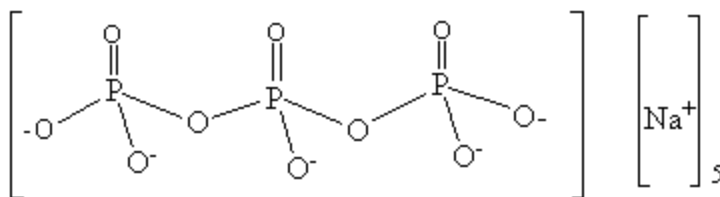


Figura 2. 5: Estructura química del tripolifosfato de sodio (TPP)

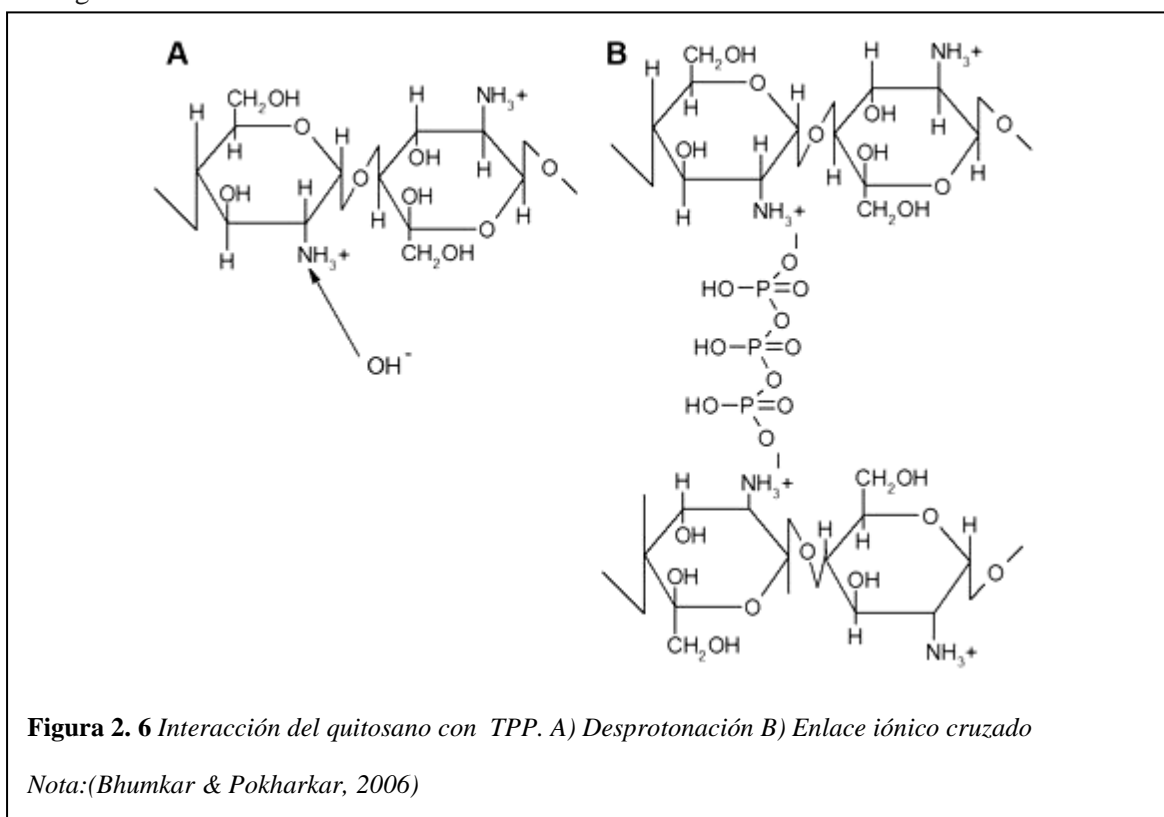
El tripolifosfato de sodio es un agente entrecruzante no tóxico, que es capaz de formar geles al unirse con el quitosano por interacción iónica.

Se ha estudiado la formación de complejos entre estas dos moléculas con cargas opuestas para obtener formulaciones. El proceso se da por interacción iónica entre el quitosano y el tripolifosfato sódico e implica la mezcla de dos fases acuosas a temperatura ambiente sin uso de solventes orgánicos.

Los pKa del TPP son $pK_1 = 1$, $pK_2 = 2$, $pK_3 = 2,79$, $pK_4 = 6,47$ y $pK_5 = 9,24$. Los aniones procedentes del TPP son: $(P_3O_{10})^{5-}$, $(HP_3O_{10})^{4-}$ y $(H_2P_3O_{10})^{3-}$ y coexisten en solución acuosa en función del pH.

Dependiendo del valor de éste, predominarán unos u otros y de ello dependerá el tipo de interacción que ocurra entre el TPP y el quitosano. Cuando el TPP se disuelve en agua, con pH 9, se disocia en iones $(P_3O_{10})^{5-}$ y, este a su vez en $(HP_3O_{10})^{4-}$ y en iones OH^- .

Al añadir la solución de este agente entrecruzante (pH 9) a una solución de quitosano (pH ácido), los iones $(P_3O_{10})^{5-}$ y $(HP_3O_{10})^{4-}$ compiten con los OH^- por reaccionar con los grupos NH_3^+ del quitosano por entrecruzamiento iónico, en el caso de los iones tripolifosfóricos o por desprotonación, en el caso de los OH^- . A pH 9, en la disolución de TPP, por tanto, habrán grupos aminos neutralizados por los grupos hidroxilo y grupos aminos entrecruzados iónicamente. Sin embargo, si el pH del TPP es ajustado a un pH ácido, solo existirían iones tripolifosfóricos. El tipo de iones tripolifosfóricos y su proporción vendrán dados por el pH de la solución. En este caso, el complejo quitosano-TPP se forma exclusivamente por entrecruzamiento iónico entre los grupos NH_3^+ y los aniones de TPP. Ver Figura 2.6.



2.2.2.9 Peso Molecular Viscoso Promedio del Quitosano

Una de las técnicas más utilizadas para evaluar el peso molecular promedio de un polímero, concretamente el peso molecular viscoso promedio (M_v), es la viscosimetría, por tratarse de un método fácil y rápido que necesita una instrumentación mínima.

Para relacionar la viscosidad intrínseca con el peso molecular de macromoléculas flexibles se han propuesto modelos que reconocen una relación entre la viscosidad, el tamaño y forma de macromo-

lécules. Las dimensiones de las cadenas poliméricas no solo dependen del peso molecular sino también del efecto del solvente; pues en un solvente eficiente la cadena se extiende, mientras que en un solvente deficiente la cadena se repliega, siendo por consiguiente la viscosidad menor que en el primero (Romo, 1981). Las ecuaciones involucradas son:

Ecuación 2. 1: Viscosidad intrínseca

$$[\eta] = \lim_{c \rightarrow 0} \eta_{red} = \lim_{c \rightarrow 0} (\eta_{sp} / c)$$

Donde:

$[\eta]$: viscosidad intrínseca

$[\eta]_{red}$: viscosidad relativa.

$[\eta]_{sp}$: viscosidad específica

c : concentración

Ecuación 2. 2: Viscosidad relativa

$$\eta_r = \frac{\eta}{\eta_0} = \frac{t}{t_0}$$

$$\eta_r = \frac{t}{t_0}$$

Donde:

η y η_0 son, respectivamente, las viscosidades de la solución (Quitosano en 0,1 M CH_3COOH /0,2 M NaCl) y del disolvente puro (0,1 M CH_3COOH /0,2 M NaCl) (Parada, Crespín, Miranda & Katime, 2004).

t es el tiempo de paso de la solución por un capilar y t_0 el tiempo de paso del disolvente puro por el mismo capilar.

Ecuación 2. 3: Viscosidad específica

$$\eta_{sp} = \eta_r - 1$$

Para determinar el peso molecular viscoso promedio M_v de un polímero puede usarse la ecuación de Mark y Houwink, que se emplea para polímeros con cadenas extendidas y pesos moleculares dentro del ámbito de $10^4 < M < 10^6$.

Ecuación 2. 4: Ecuación de Mark-Houwink (Picout & Ross-Murphy, 2007)

$$[\eta] = K_m M^a$$

Donde:

K_m es una constante característica del sistema polímero–disolvente y la constante a depende de la configuración de la cadena polimérica. Esta constante varía entre $0 < a < 1$.

M es el peso molecular viscoso promedio.

Las constantes K_m y a de un polímero se valora mediante la determinación de $[\eta]$ de por lo menos dos fracciones del mismo polímero del cual se conoce los pesos moleculares.

2.3 Evaluación Sensorial del falso caviar de alginato y quitosano

2.3.1 Textura

Es la característica sensorial del estado sólido o reológico de un producto, cuyo conjunto es capaz de estimular los receptores mecánicos de la boca durante la degustación. La textura del alimento se valora básicamente por el esfuerzo mecánico no solo total sino por el tipo (masticación blanda, fractura, etc).

En términos mecánicos, se trata de un fenómeno que mediante la contracción muscular, produce una deformación de la materia degustada, pero extraordinariamente compleja, ya que en algunos casos se llega a distinguir características físicas tales como viscosidad de los fluidos newtonianos y la consistencia de los no newtonianos.

La dificultad en las medidas de textura ha obligado a diseñar complejos aparatos experimentales llamados “texturómetros” (ver anexo 5.12) que permiten estimar objetivamente esta característica y que se basan en la medida de los aspectos tan diferentes como son la deformación, la compresión, la resistencia a la tracción y la fuerza de corte o cizalla.

La percepción de la textura depende de la deformación del alimento y/o determinadas propiedades estructurales estimadas por el tacto o por la vista. Sin embargo, la mejor valoración de la textura se efectúa por medio de las sensaciones experimentales en la boca, por lo que los procesos de masticación y deglución adquieren un valor muy importante.

Distintos alimentos tienen consistencia y texturas diferentes. No hay dos estabilizantes, espesantes, ni gelificantes exactamente iguales; en general cada uno es más eficaz en una aplicación concreta que otro. Por ejemplo la gelatina produce una textura elástica y suave mientras que el agar produce una textura más dura y frágil.

2.3.2 Análisis Sensorial

El análisis sensorial de los alimentos se lleva a cabo de acuerdo con diferentes pruebas, según sea la finalidad para la que se efectúe. Existe tres tipos principales de pruebas: las pruebas afectivas, las discriminativas y las descriptivas (Anzaldúa, 1996).

2.3.2.1 Pruebas afectivas

Las pruebas afectivas son aquellas en las cuales el juez expresa su reacción subjetiva ante el producto, indicando si le gusta o le disgusta, si lo acepta o lo rechaza, o si lo prefiere a otro. Las pruebas afectivas pueden clasificarse en tres tipos: pruebas de preferencia, pruebas de grado de satisfacción y pruebas de aceptación.

2.3.2.2 Prueba de preferencia

Simplemente se desea conocer si los jueces prefieren una cierta muestra sobre otra; la prueba es muy sencilla y consiste nada más en pedirle al juez que diga cuál de las dos muestras prefiere. Es importante incluir en el cuestionario una sección para comentarios para que así uno pueda darse cuenta de por qué los jueces prefieren una muestra en particular.

2.3.2.3 Codificación de muestras

Para codificar las muestras, debe usarse números de tres o cuatro cifras que no sugieran nada a los jueces. Es recomendable que la mitad del grupo de los jueces prueben primero la muestra bajo estudio (quitosano) y después la muestra contra la cual se compara (alginato), y que la otra mitad del grupo las prueben en el orden inverso.

2.3.2.4 Interpretación de resultados

Se determina cuál de las dos muestras aparentemente es más preferida. Se consulta la Tabla de distribución F (Apéndice IV de Anzaldúa (1998), ver los Anexos 5.6 y 5.7) para obtener el número mínimo de respuestas coincidentes para que haya diferencia significativa; se usa el nivel de significancia del 5%.

2.4 Fundamento Legal

La concentración permitida de alginato de sodio, tripolifosfato de sodio y ácido cítrico en alimentos está en la Norma Técnica Ecuatoriana. Aditivos Alimentarios permitidos para el consumo humano. NTE INEN 2 074; 1996: 301, 401 y 451(Ver Anexos 5.1, 5. 2 y 5.3).

CAPITULO III

METODOLOGÍA

3.1 Tipo de Investigación

La investigación fue de tipo experimental y se desarrolló en los laboratorios de Química Ambiental y de Análisis Instrumental de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Central del Ecuador.

3.2 Población y muestra

Población: se elaboró en total 100 esferas de quitosano y 20 esferas de alginato.

Muestra: del total de esferas elaboradas se utilizó, en la parte experimental, 81 esferas de quitosano y 12 esferas de alginato seleccionadas al azar.

3.3 Diseño Experimental

Se utilizó un diseño factorial completamente al azar de tres factores con tres niveles cada uno, y con tres repeticiones por tratamiento.

3.3.1 Factores en estudio (ver Tabla 3.3)

Las variables independientes fueron:

- Concentración de quitosano (%p/v): 1, 2, 3.
- Concentración de tripolifosfato de sodio (%p/v): 0,5, 1, 1,5.
- Tiempo de gelificación (min): 30,60, 90.

Las variables dependientes a medir fueron:

- Textura de las esferas.
- Tamaño de las esferas.
- Densidad aparente de las esferas.
- Estabilidad aparente (vida útil) de las esferas.

Tabla 3. 1: Variables independientes y dependientes.

Variables independientes	Variables dependientes
Concentración de quitosano	Textura de las esferas
Concentración de Tripolifosfato	Tamaño de las esferas
Tiempo de gelificación	Densidad de las esferas
	Estabilidad de las esferas

En la Tabla 3.3 se detallan los factores y los niveles que se utilizó; se decidió estudiar este rango de variables en base a pruebas preliminares. Se usó como control esferas preparadas con alginato de sodio.

3.3.2 Tratamientos

Para la definición de los tratamientos se realizó la combinación de los tres factores en estudio: concentración de quitosano/concentración de tripolifosfato/tiempo de gelificación (C_x , B_y , t_z), se obtuvo como resultado nueve tratamientos por cada concentración de quitosano como se indica en la Tabla 3.4. En cada tratamiento se medirán las variables dependientes: textura, tamaño, densidad y estabilidad física de las esferas.

3.3.3 Análisis Estadístico

Para el análisis de las variables dependientes: textura, densidad, tamaño y estabilidad física, se utilizó un diseño completamente al azar (DCA) con tres variables y tres repeticiones. Los cálculos se realizaron mediante el programa Microsoft Office Excel versión 2007 y el Software Estadístico InfoStat versión 2004. Para la interpretación de los resultados se utilizaron los libros: Azaldúa, La evaluación sensorial de los alimentos en la teoría y la práctica, 1998 y Kuehl, Diseño de Experimentos, 2001. Con los datos experimentales obtenidos se realizó el siguiente análisis estadístico:

- Análisis de varianza al 1 y 5 % de significancia.
- Coeficiente de variación expresado en porcentaje.
- Prueba de rango múltiple de Duncan al 5% de significancia para la comparación de medias de los tratamientos.
- Prueba de Dunnett al 5% de significancia para comparar todos los tratamientos con un control.

Tabla 3. 2: Esquema del diseño experimental

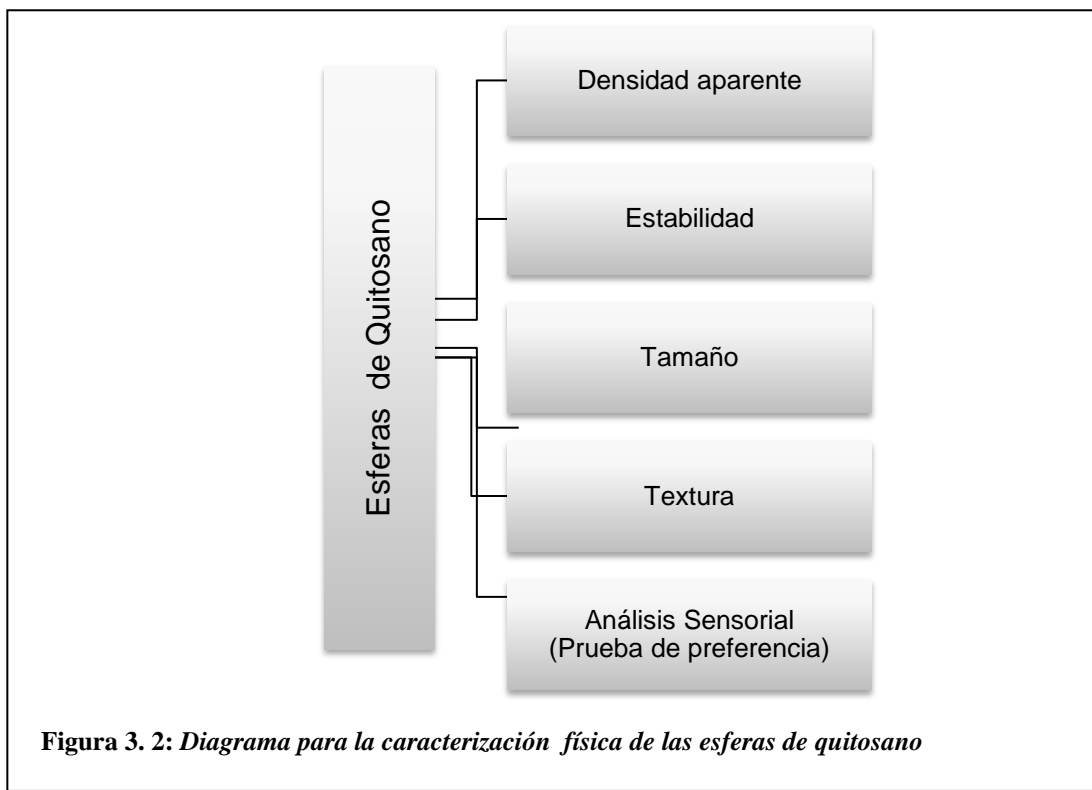
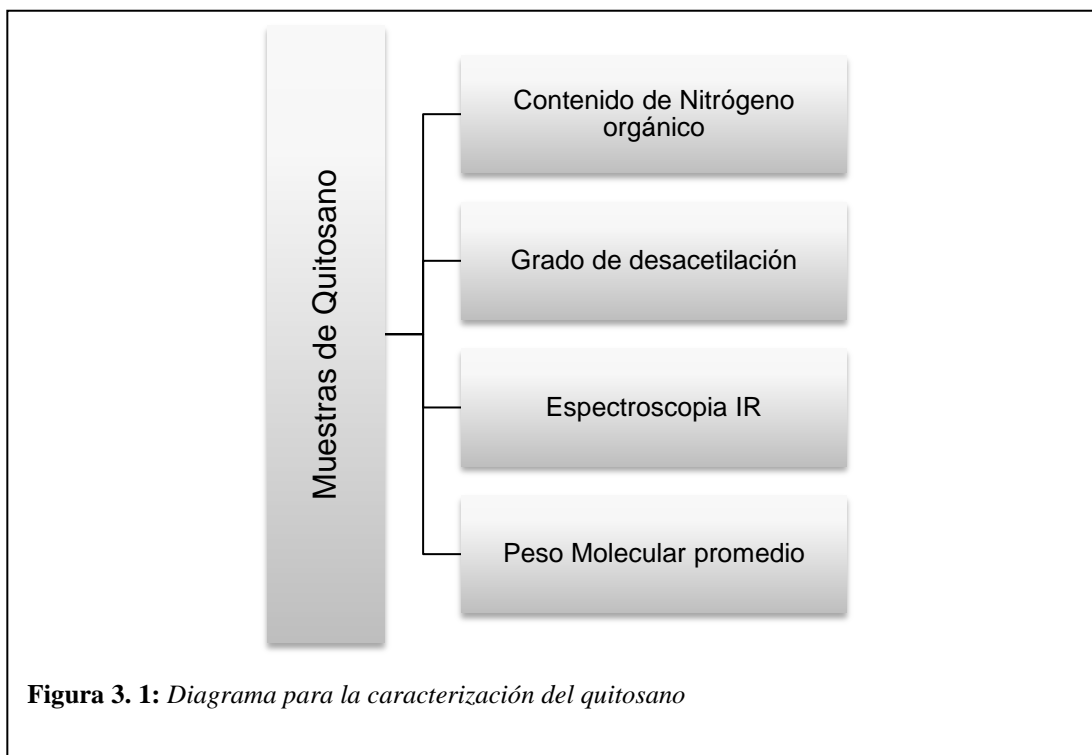
FACTORES EN ESTUDIO						
C(x)		Concentración de quitosano % (p/v)	B(y)	Concentración de TPP% (p/v)	t(z)	Tiempo de gelificación (min)
C1	1	B1	0,5	t1	30	
				t2	60	
				t3	90	
		B2	1,0	t1	30	
				t2	60	
				t3	90	
		B3	1,5	t1	30	
				t2	60	
				t3	90	
C2	2	B1	0,5	t1	30	
				t2	60	
				t3	90	
		B2	1,0	t1	30	
				t2	60	
				t3	90	
		B3	1,5	t1	30	
				t2	60	
				t3	90	
C3	3	B1	0,5	t1	30	
				t2	60	
				t3	90	
		B2	1,0	t1	30	
				t2	60	
				t3	90	
		B3	1,5	t1	30	
				t2	60	
				t3	90	

Nota: TPP: Tripolifosfato de sodio grado alimenticio.

Tabla 3. 3: Diferentes tratamientos para la formación de esferas de quitosano

Concentración quitosano (%p/v)	Nº	Tratamiento
1%	1	C1B1t1
	2	C1B1t2
	3	C1B1t3
	4	C1B2t1
	5	C1B2t2
	6	C1B2t3
	7	C1B3t1
	8	C1B3t2
	9	C1B3t3
2%	1	C2B1t1
	2	C2B1t2
	3	C2B1t3
	4	C2B2t1
	5	C2B2t2
	6	C2B2t3
	7	C2B3t1
	8	C2B3t2
	9	C2B3t3
3%	1	C3B1t1
	2	C3B1t2
	3	C3B1t3
	4	C3B2t1
	5	C3B2t2
	6	C3B2t3
	7	C3B3t1
	8	C3B3t2
	9	C3B3t3

Tabla 3.5: Técnicas e Instrumentos analíticos



3.4.1 Caracterización del quitosano

3.4.1.1 Determinación del grado de desacetilación (GD) (Hidalgo, Suárez & Fernández, 2008)

- Se utilizó el método potenciométrico, el cual establece que debe solubilizarse 0,3 g de quitosano en 20 ml de una solución de HCl 0,1 N con ayuda de agitación y calentamiento a 55°C durante 1 hora.
- Transcurrido ese tiempo se procedió a realizar la titulación con un potenciómetro, utilizando una solución NaOH 0,1 N previamente valorada.
- Con los datos obtenidos se procedió a construir una curva pH vs V de NaOH, donde se visualizó los puntos de inflexión necesarios para el cálculo del grado de desacetilación, los cuales fueron comprobados por medio de la construcción de una curva dpH/dV_{NaOH} vs V NaOH. Con el valor de los puntos de inflexión obtenidos se determinó el grado de desacetilación del quitosano utilizando la ecuación 3.1:

Ecuación 3. 1: Ecuación del grado de desacetilación

$$\% \text{NH}_2 = \frac{16.1 \times (\text{Pto. inflexión mayor} - \text{Pto. inflexión menor}) \times M_{\text{NaOH}}}{\text{masa}_{\text{quitosano}}}$$

16,1= Valor relacionado con el peso equivalente del quitosano.

Fundamento: Se colocó al quitosano un exceso de ácido clorhídrico, para que ocurra la protonación del grupo amino libre y se valoró después esta disolución con hidróxido de sodio. El NaOH reaccionó primero con el ácido libre en la disolución y después desplazó, de la molécula de quitosano, el protón unido al grupo amino libre. El quitosano precipitó al quedar libre en un medio neutro, por lo que se registró la diferencia de pH entre estos dos puntos y se obtuvo una curva de pH frente a volumen de NaOH añadido, con dos puntos de inflexión. El primer y segundo punto de inflexión fueron equivalentes a la titulación del exceso de ácido clorhídrico y al de la titulación del quitosano protonado, respectivamente. La diferencia de volumen entre estos dos puntos de inflexión, correspondió a la cantidad del ácido requerido para protonar los grupos amino del quitosano y cuya diferencia permitió la determinación del GD del quitosano (Hidalgo, Suárez & Fernández, 2008).

3.4.1.2 Determinación de nitrógeno orgánico (Romero, 2011)

La determinación se realizó mediante el método de Kjeldahl, el cual consistió en la descomposición de la muestra en caliente con ácido sulfúrico concentrado para convertir el nitrógeno combinado en ion amonio. La solución resultante se enfrió, se diluyó y se volvió básica. El amoniaco que se liberó, se destiló, se recogió en una solución ácida y se determinó por medio

de una titulación de neutralización. Para el cálculo del contenido de nitrógeno se utilizó la siguiente ecuación:

Ecuación 3. 2.Ecuación del contenido de nitrógeno orgánico

$$\% \text{ Nitrógeno Total} = \frac{V_{\text{HNO}_3} \times N_{\text{HNO}_3} \times 0,014 \times 100}{\text{masa}_{\text{muestra}}}$$

Peso mili- equivalente del nitrógeno= 0,014 m-eq/l.

3.4.1.3Espectroscopia infrarroja (IR)

- Los espectros IR de quitosano y de quitina se realizaron en el laboratorio de Instrumental, en un espectrofotómetro Perkin Elmer modelo R X1, por medio de la técnica de la pastilla de bromuro de potasio mediante la cual se determinó los picos característicos del quitosano.

3.4.1.4 Determinación del peso molecular viscoso promedio del quitosano

El peso molecular se calculó mediante la ecuación de Mark-Houwink (Romo, 1981).

- Se calibró el baño térmico a 25°C.
- Se puso una determinada cantidad del solvente puro (0,1 M CH₃COOH/0,2 M NaCl) en el viscosímetro de Ostwald.
- Se llevó al baño térmico y se espero 5 min para que se estabilice la temperatura.
- Se midió el tiempo para el solvente puro.
- Se preparó soluciones de quitosano de concentración 0,010; 0,009; 0,008; 0,007 y 0,006 g/10ml.
- Se midió el tiempo de cada solución utilizando el viscosímetro de Ostwald. Se realizó las mediciones por triplicado y se calculó la viscosidad.
- El peso molecular del quitosano se determinó mediante la viscosidad intrínseca, la cual se obtuvo a partir de las mediciones de viscosidad relativa.
- Se realizó un gráfico de $\frac{\eta_{sp}}{C}$ vs C y se extrapoló a una concentración teórica del quitosano igual a 0 que correspondió a la viscosidad intrínseca (η_{sp} , viscosidad específica y C , concentración de quitosano).
- Se calculó el peso molecular a partir de los valores de viscosidad intrínseca, empleando la ecuación de Mark-Houwink.

3.4.2 FORMACIÓN DE ESFERAS DE ALGINATO Y QUITOSANO

3.4.2.1 Preparación de la solución de alginato

- Se procedió a preparar una solución de alginato de 0,8 %p/v en 100 ml de agua embotellada, que se utilizó para la precipitación y formación de esferas.

3.4.2.2 Gelificación de alginato en cloruro de calcio

- Se procedió a llenar una pipeta Pasteur con la solución de alginato y se goteó poco a poco en una solución de cloruro de calcio de concentración 1,5 g de CaCl_2 en 250 ml de agua embotellada.
- Las esferas de alginato formadas se las mantuvo, mediante agitación suave, en la solución por un tiempo de 60 segundos; luego se lavó con abundante agua embotellada hasta eliminar el exceso de cloruro de calcio.

3.4.2.3 Preparación de las soluciones de quitosano

- Se procedió a preparar soluciones de quitosano de 1, 2 y 3 %p/v en ácido cítrico al 5 %. De este modo se obtuvo 9 soluciones que se usaron para la precipitación y formación de esferas.

3.4.2.4 Gelificación de quitosano en tripolifosfato de sodio grado alimenticio

- Se procedió a llenar una pipeta Pasteur con las soluciones de quitosano y se goteó poco a poco en soluciones de tripolifosfato de sodio de concentraciones de 0,5 %, 1% y 1,5 %p/v.
- Las esferas de quitosano formadas se las mantuvo, mediante agitación suave, en las soluciones por un tiempo de 30, 60 y 90 minutos; luego se lavó con abundante agua embotellada hasta eliminar el exceso de tripolifosfato de sodio.

3.4.3 CARACTERIZACIÓN DE LAS ESFERAS DE ALGINATO Y QUITOSANO

3.4.3.1 Determinación de la Textura

- La medición de la textura, se realizó en el analizador de textura Brookfield, modelo CT3 4500; siguiendo las instrucciones del manual del equipo (Brookfield Engineering Labs. Manual No. M/08-371A0708).

- Las muestras se colocaron en la posición central de la sonda, fue esencial que exista una distancia suficiente entre la superficie de la muestra y la base de la sonda (alrededor de 20 mm), de modo que las características de adherencia pudieron ser evaluadas.
- Se estableció el modo de prueba Normal; con la siguiente especificación de los parámetros:

Valor de activación: 4,5 g

Deformación o distancia: 1,5 mm, este valor se estableció de acuerdo al tamaño variable de las esferas

Velocidad: 0,5 mm/s

- Se utilizó la sonda de forma cilíndrica en base a la naturaleza de la muestra.
- La medición se realizó por triplicado.

3.4.3.2 Determinación de la densidad

- Se utilizó un método indirecto considerando que el sólido (las esferas) es de forma irregular.
- Se pesaron las esferas en una balanza analítica para encontrar su masa.
- Para obtener su volumen se sumergió completamente las esferas, y con cuidado, en una probeta que tiene un volumen exacto de agua (V_0); luego se leyó el volumen final (V_f), el volumen del sólido correspondió a la diferencia ($V_f - V_0$).
- La densidad de las esferas se calculó dividiendo la masa sobre el volumen.

3.4.3.3 Determinación del tamaño de la esfera

- Se determinó el diámetro promedio de las esferas utilizando un calibrador, se midió el diámetro de una muestra de 15 esferas.

3.4.3.4 Determinación de la estabilidad física

- Se estimó la estabilidad mediante el análisis de la pérdida de humedad de las esferas a los 30, 60 y 120 minutos. Al pasar el tiempo, se observó su forma y se presionó levemente las esferitas para comprobar si mantenían líquido en su interior.

3.4.3.5 Análisis Sensorial. Prueba de preferencia

- Se elaboró esferas de quitosano y alginato, con saborizante de limón y colorantes rojo y verde limón, y se presentó en un baboroise como vehículo (postre frío elaborado de leche condensada y evaporada, crema de leche, gelatina sin sabor y edulcorante).

- La selección de los jueces se realizó de acuerdo a sus habilidades, disponibilidad e interés mostrado para la realización de la prueba; los jueces tuvieron un entrenamiento previo de seis meses en la materia de Análisis Sensorial.
- A cada juez se le presentó una hoja guía de la prueba de preferencia, donde eligió cuál de las dos muestras prefiere, ver Anexo 5.4.

3.5 Equipos y Materiales

- Balanza analítica Mettler Toledo, precisión: $\pm 0,0001$ g.
- Texturometro Brookfield modelo: CT3 4500, rango: 0-4500 gramos, resolución: 0,50 gramos y exactitud: $\pm 0,5\%$ rango de escala. Condiciones ambientales: 0-40°C de temperatura y 20-80% de humedad relativa.
- Viscosímetro Ostwald.
- Potenciómetro Mettler Toledo
- Agitador magnético MLW modelo: UR2
- Cronómetro, precisión 0,01 segundos.
- Probeta FISHER de 5ml, precisión $\pm 0,5$ ml
- Calibrador, precisión 0,02 mm.
- Baño Térmico Memmert, precisión $\pm 0,1$ °C

3.6 Reactivos

- Quitosano: RITA CHITOSAN MV, Rita Corporation, Lot. # OOASMF0079. INCI: DEACYLATED CHITIN. CAS: 9012 - 76-4. (G.A.).⁴
- Solución de ácido cítrico 5%.(G.A.)
- Soluciones de tripolifosfato de sodio 0,5% ; 1%; 1,5%. (G.A.)
- Alginato de sodio, CARMAGOURMET S.A.(G.A.)
- Solución de cloruro de calcio 0,6 %, CARMAGOURMET S.A.(G.A.)
- Hidróxido de sodio 0,1 N.
- Ácido Clorhídrico 0,1 N.
- Agua embotellada, ver composición en el Anexo 5.5.

⁴ G.A.= grado alimenticio

CAPITULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Determinación del grado de desacetilación (GD) del quitosano

El grado de desacetilación se determinó mediante mediciones potenciométricas. La figura 4.1 muestra la curva de titulación del quitosano con NaOH donde se observó dos puntos de inflexión (a) y (b). Los valores de estos puntos se determinaron según el criterio de la primera derivada que se indica en la figura 4.2. El punto de inflexión mayor fue igual a 29 ml y el punto de inflexión menor fue de 16 ml. El grado de desacetilación se obtuvo con la ecuación 5 utilizando 0,3007g de quitosano y NaOH 0,101 mol/l. Por lo tanto, el grado de desacetilación del quitosano fue de 70,3%.

$$\% \text{ NH}_2 = \frac{16,1 \times (\text{Pto. inflexión mayor} - \text{Pto. inflexión menor}) \times M_{\text{NaOH}}}{\text{masa}_{\text{quitosano}}}$$

$$\% \text{ NH}_2 = \frac{16,1 \times (29 - 16) \times 0,101}{0,3007\text{g}} = 70,3\%$$

El resultado de la determinación del grado de desacetilación por potenciometría indicó que el polímero tiene una desacetilación del 70,3%, que se encuentra dentro del rango de las muestras comerciales que va de 70 a 79%, que constituye un criterio de la calidad del proceso de obtención de los quitosanos como indica la literatura (Hidalgo, Fernandez, Nieto, Paneque & Llópiz, 2009).

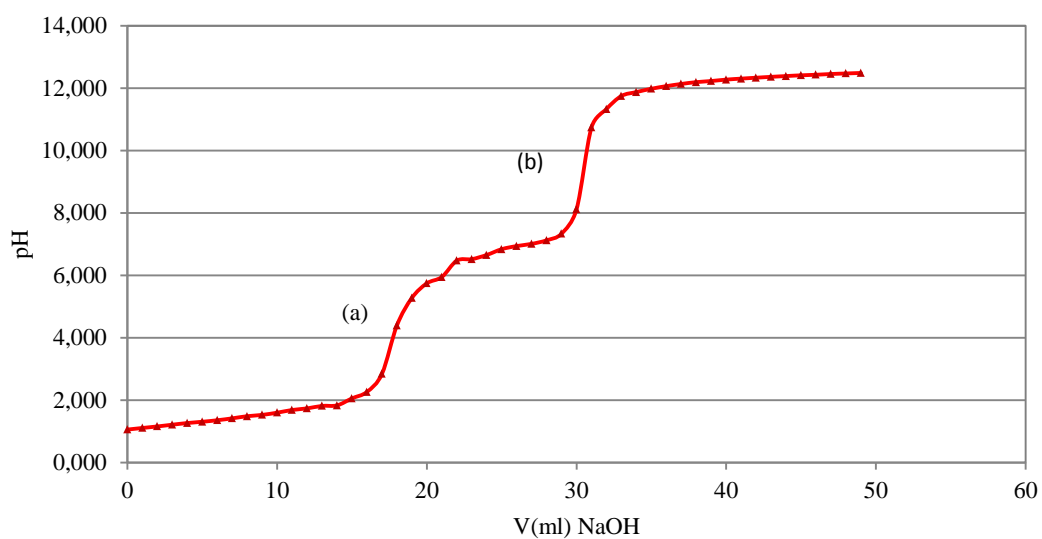


Figura 4. 1: *Curva de titulación del quitosano. Volumen de NaOH 0.1 M vs pH*

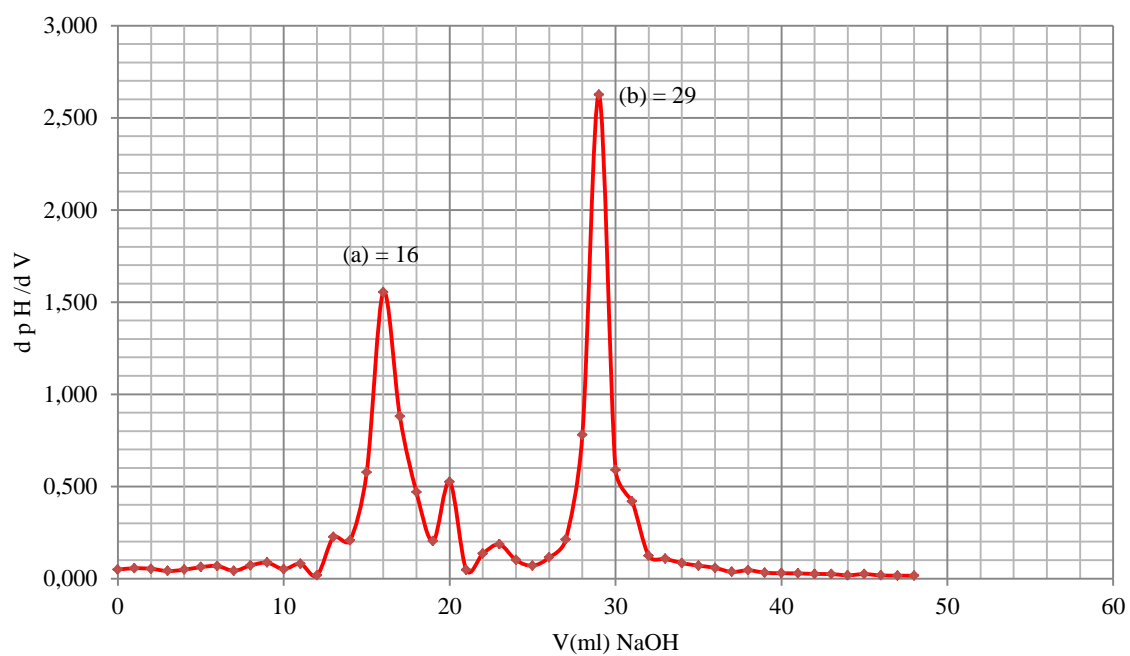


Figura 4. 2 : *Primera derivada de la titulación de quitosano con NaOH 0.1M*

4.2 Determinación del contenido de nitrógeno orgánico

El contenido de nitrógeno se determinó por el método de Kjeldahl. Los valores empleados en la ecuación 6 fueron: 0,2090 g de quitosano y 11,14 ml de HNO₃ 0,0914N. El porcentaje de nitrógeno total que presentó la muestra fue de 6,98%, valor que se encontró dentro del rango para quitosano el cual puede variar de 6,83 a 7,30 % N como indica la literatura (Hidalgo, Fernández, Nieto, Paneque, & Llópiz, 2009).

$$\% \text{ Nitrógeno} = \frac{V_{(\text{ml})\text{HNO}_3} \times N_{\text{HNO}_3} \times 0,014 \times 100}{\text{masa}_{(\text{g})\text{muestra}}}$$

$$\% \text{ Nitrógeno} = \frac{11,14 \text{ ml} \times 0,0914\text{N} \times 0,014 \text{ mEq-g} \times 100}{0,2090\text{g}}$$

$$\% \text{ N} = 6,98\%$$

4.3 Espectroscopia infrarroja (IR)

La figura 4,3 indica el espectro infrarrojo de la muestra de quitosano empleada, el cual presentó los grupos funcionales característicos del biopolímero. Fue evidente la banda del grupo amino a 1652,146 cm⁻¹ y se observó una buena definición de la banda de los grupos OH a 3419,355 cm⁻¹ y N-H a 3281,507 cm⁻¹. Así mismo, se apreciaron las bandas del grupo C-H a 2918,835 cm⁻¹, el grupo piranósico a 1152,882 cm⁻¹ y el grupo C-O-C a 1017,402 cm⁻¹. Este espectro fue similar al que presenta la literatura (Hernández, Águila, Flores, Viveros, & Ramos, 2009).

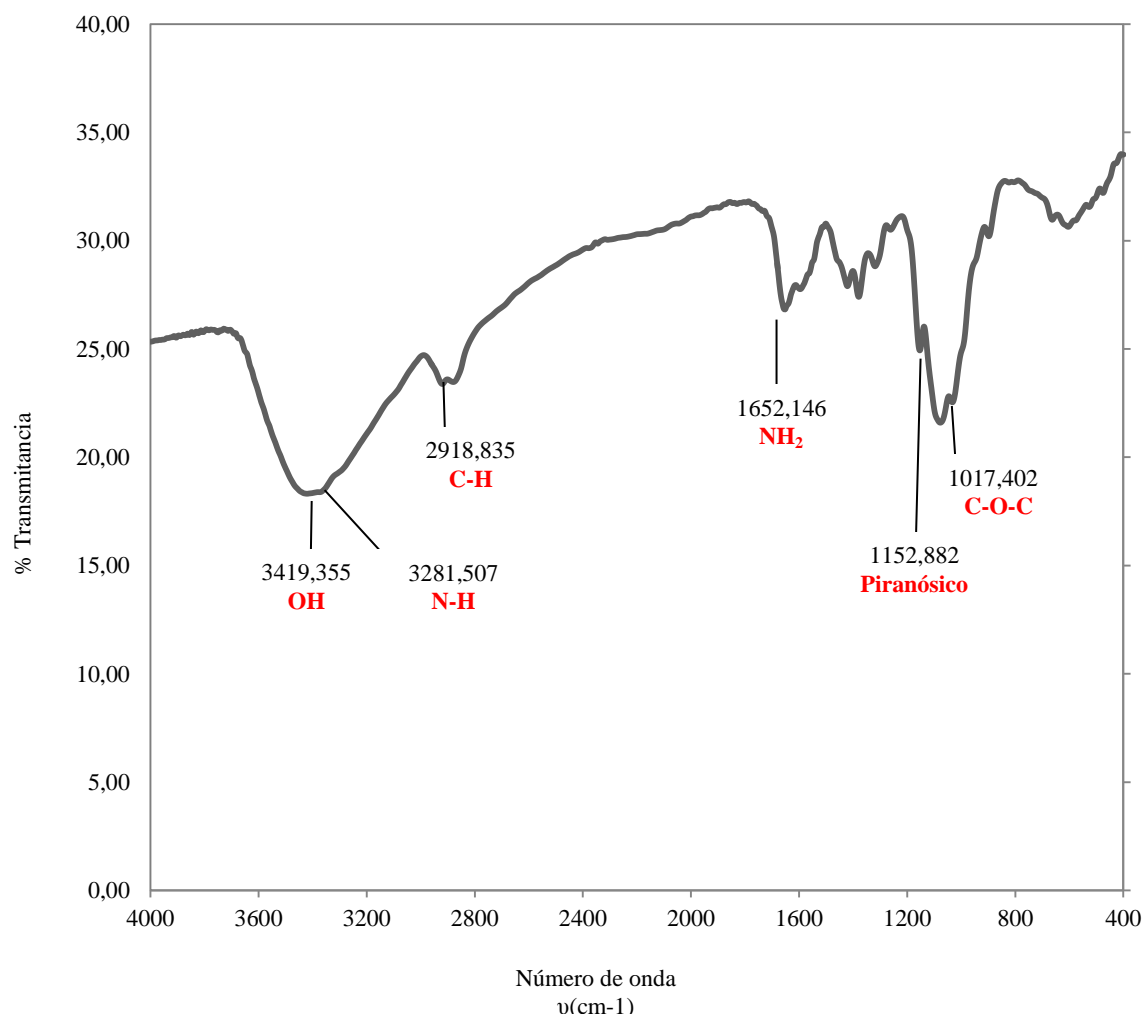
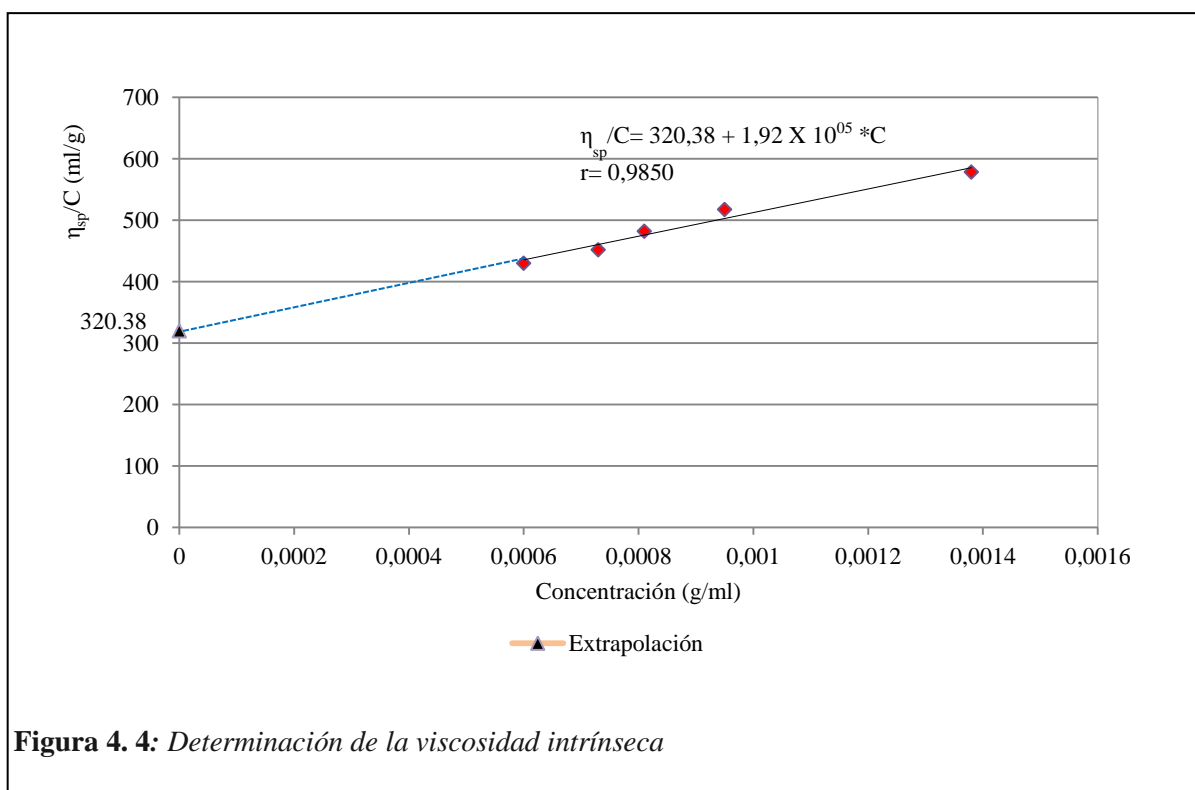


Figura 4. 3: *Espectro de adsorción infrarrojo del quitosano*

4.4 Determinación del peso molecular viscoso promedio de quitosano

El peso molecular del quitosano se determinó mediante medidas de viscosidad con la ecuación de Mark - Houwink, la constante a fue igual a 0,93 y K igual a $1,81 \times 10^{-03} \text{ m/g}$ para el sistema 0,1 M $\text{CH}_3\text{COOH}/0,2 \text{ M NaCl}$ utilizado (Parada, Crespín, Katime, & Miranda, 2004). Ver figura 4.4. Determinación de la viscosidad intrínseca.



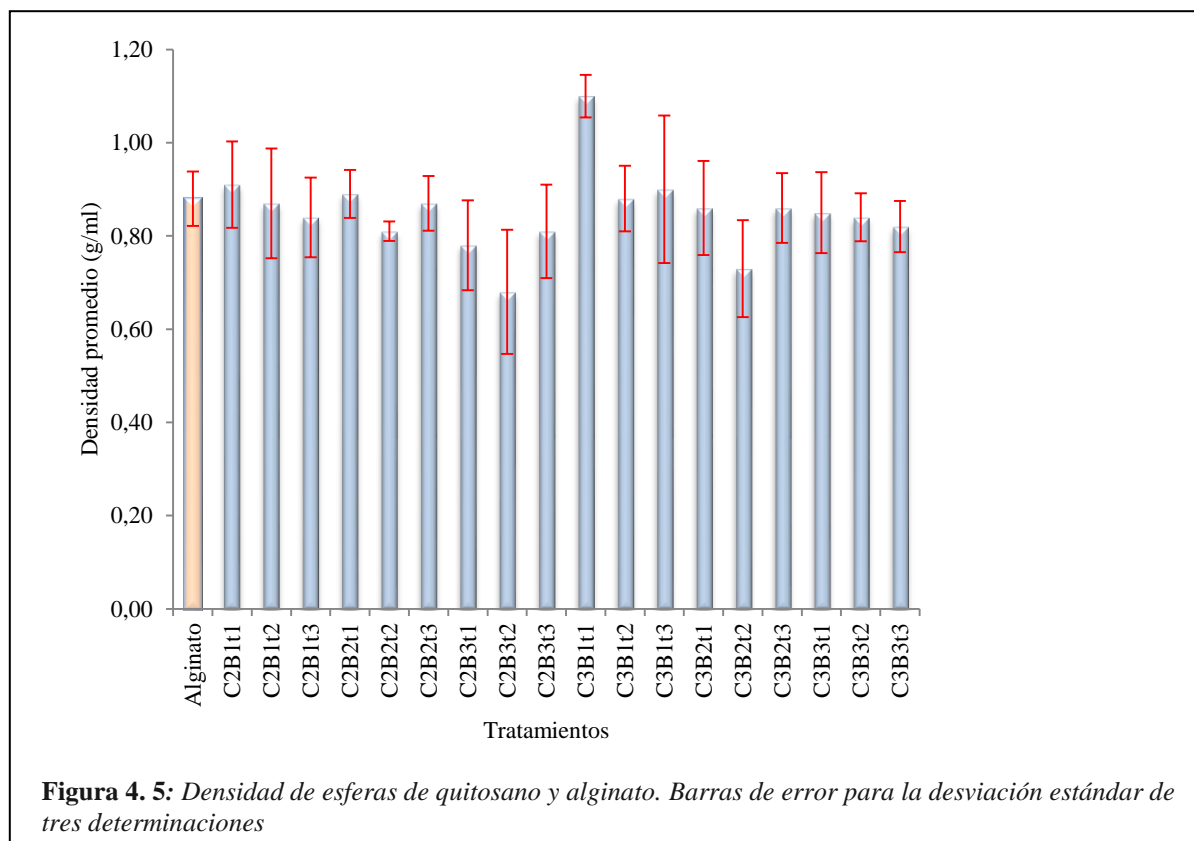
$$M_v = \left(\frac{[\eta]}{k} \right)^{\frac{1}{a}} =$$

$$M_v = \left(\frac{[320,38]}{1,81 \times 10^{-03}} \right)^{\frac{1}{0,93}} = 4,40 \times 10^5 \text{ g/mol}$$

El peso molecular viscoso promedio (M_v) obtenido para el biopolímero fue de $4,40 \times 10^5 \text{ g/mol}$. El M_v está en el mismo orden de magnitud que el quitosano grado técnico que es de $1,65 \times 10^5 \text{ g/mol}$ (Sánchez, Sibaja, Vega & Madrigal, 2007).

4.5 Comparación de la densidad entre esferas de quitosano a diferentes concentraciones y entre esferas de quitosano con esferas de alginato

La figura 4.5 indica la densidad de las esferas de quitosano para los diferentes tratamientos comparadas con la densidad de las esferas de alginato control. Las barras de error corresponden a la desviación estándar de tres determinaciones de densidad. La densidad más baja se obtuvo con el tratamiento C2B3t2 y la densidad más alta con el tratamiento C3B1t1. La densidad promedio de las esferas control de alginato fue de 0,88 g/ml. Se observó que la densidad de las esferas de quitosano tenía valores cercanos a la densidad del control. No se obtuvieron datos de densidad de quitosano al 1% con tripolifosfato de sodio, ya que las esferas se destruyeron a los pocos segundos.



Con los datos obtenidos de densidad se realizó un análisis estadístico para examinar los diferentes tratamientos, ver Tablas de la 4.1 a la 4.5.

Tabla 4. 1: Análisis de varianza para un DCA para la densidad de esferas de quitosano

FV	SC	GL	CM	F. calculada	F. tabulada		SIG
					5%	1%	
Total	0,67	53					
Tratamientos	0,38	17	0,02	2,62	2,01	2,70	*
A	0,03	1	0,03	3,52	4,17	7,56	NS
B	0,14	2	0,07	8,21	3,32	5,39	**
C	0,08	2	0,04	4,69	3,32	5,39	*
A*B	0,05	2	0,03	2,93	3,32	5,39	NS
A*C	0,01	2	0,01	0,59	3,32	5,39	NS
B*C	0,04	4	0,01	1,17	2,69	4,02	NS
A*B*C	0,04	4	0,01	1,17	2,69	4,02	NS
E. Exp.	0,29	34	0,01				

*Nota: A concentración de quitosano, B concentración de tripolifosfato de sodio y C tiempo de gelificación. NS: No significativo, * Significativo al 5%, ** Significativo al 1 %*

Promedio= 0,85g/ml, CV= 10,09%

Hipótesis nula: Ho: Los tratamientos son iguales

Hipótesis Alternativa: H1: Los tratamientos no son iguales

Para el factor A, se aceptó la hipótesis nula y se rechazó la hipótesis alternativa. La concentración de quitosano no influyó en la densidad de las esferas. Para los factores B y C, se aceptó la hipótesis alternativa y se rechazó la hipótesis nula. Los valores de F calculada manifestaron diferencia significativa para el factor C, y diferencia altamente significativa para el factor B. La densidad de las esferas varió dependiendo de la concentración de tripolifosfato y el tiempo de gelificación. Las interacciones A*B, A*C, B*C y A*B*C no fueron significativas. La tabla 4.1 indicó que la densidad promedio de las esferas de quitosano al 2 y 3%p/v en función de las concentraciones del tripolifosfato de sodio (0,5; 1,0; y 1,5 %p/v) y tiempo de gelificación (30, 60, y 90 min) fue 0,85 g/ml. El coeficiente de variación (CV) mostró que la densidad de las esferas varió en un 10,09 %, este valor reflejó una mediana heterogeneidad entre los datos obtenidos debido a la influencia de la concentración de tripolifosfato de sodio y el tiempo de gelificación.

Además, los tratamientos 17 y 18, con 2 y 3 %p/v de quitosano; 0,5 %p/v de tripolifosfato de sodio y tiempo de gelificación de 30 min (C2B1t1 y C3B1t1, respectivamente) fueron los de mayor densidad (Ver tabla 4.2).

El análisis de varianza indicó que algunos tratamientos fueron diferentes, entonces, se utilizó la prueba de Duncan para determinar que tratamientos fueron iguales entre si y cuales diferentes (Ver Tablas 4.2, 4.3 y 4.4).

Tabla 4. 2: Prueba de Duncan al 5% de significancia para la densidad de las esferas

N°	Tratamiento	Tratamientos	Densidad promedio (\bar{x})	RANGO DE DUNCAN
18		C3B1t1	1,10	A
17		C2B1t1	0,91	B
16		C3B1t3	0,90	
15		C2B2t1	0,89	
14		C3B1t2	0,88	
13		C2B2t3	0,87	
12		C2B1t2	0,87	
11		C3B2t1	0,86	
10		C3B3t1	0,86	
9		C3B3t1	0,85	
8		C3B3t2	0,84	
7		C2B1t3	0,84	
6		C3B3t3	0,82	
5		C2B3t3	0,81	
4		C2B2t2	0,81	
3		C2B3t1	0,78	
2		C3B2t2	0,73	C
1		C2B3t2	0,68	

Nota: Promedio de tres determinaciones

Tabla 4. 3: Prueba de Duncan al 5% de significancia para la densidad de las esferas

Concentración de TPP	\bar{x}	RANGOS
B1	2,75	A
B2	2,51	B
B3	2,39	C

Nota: Promedio de tres determinaciones de concentraciones de Tripolifosfato de sodio (TPP)

Tabla 4. 4: Prueba de Duncan al 5% de significancia para la densidad de las esferas.

tiempo de gelificación	\bar{x}	RANGOS		
t1	2,69	A		
t3	2,55		B	
t2	2,41			C

Nota: Promedio de tres determinaciones del tiempo de gelificación

La Tabla 4.2 demuestra que con diferentes concentraciones de tripolifosfato de sodio y tiempo de gelificación en las soluciones de quitosano de 2 y 3 %p/v existieron tres rangos estadísticamente diferentes de densidad. Observándose que el tratamiento 1 ubicado en el rango estadístico “C” presentó el valor menor de densidad, el mismo que fue importante en la caracterización de las esferas. La mayoría de tratamientos pertenecieron al rango estadístico “B”; los valores más altos de densidad correspondieron a los tratamientos con menor concentración de tripolifosfato de sodio (0,5 %p/v, tratamientos 16, 17 y 18) en las esferas elaboradas con 2 y 3 %p/v de quitosano. Observándose que el tratamiento 18 ubicado en el rango estadístico “A” presentó el valor más alto de densidad, que fue de 1,10 g/ml con quitosano al 3 %p/v, con concentración de tripolifosfato de sodio de 0,5 % p/v y tiempo de gelificación de 30 min. Al reaccionar el quitosano con poca concentración de tripolifosfato de sodio la densidad de las esferas aumenta.

La tabla 4.3 indica que la concentración de tripolifosfato de sodio influyó en la densidad, ya que existieron tres rangos estadísticamente diferentes.

La tabla 4.4 indica que el tiempo influyó en la densidad, ya que existieron tres rangos estadísticamente diferentes.

A continuación se realizó la prueba de Dunnett para comparar la densidad de todos los tratamientos contra un control de esferas de alginato y ver si realmente fueron diferentes o iguales al control (Ver Tabla 4.5).

Tabla 4. 5: Prueba de Dunnett al 5% de significancia para la densidad.

Tratamiento	Media	⁵ $ \bar{x}_i - \bar{x}_c $	¿Diferente del control?
Alginato	0,88	-	-
C2B1t1	0,91	0,03	No
C2B1t2	0,87	0,01	No
C2B1t3	0,84	0,04	No
C2B2t1	0,89	0,01	No
C2B2t2	0,81	0,07	No
C2B2t3	0,87	0,01	No
C2B3t1	0,78	0,10	No
C2B3t2	0,68	0,20	No
C2B3t3	0,81	0,07	No
C3B1t1	1,1	0,22	No
C3B1t2	0,88	0,00	No
C3B1t3	0,9	0,02	No
C3B2t1	0,86	0,02	No
C3B2t2	0,73	0,15	No
C3B2t3	0,86	0,02	No
C3B3t1	0,85	0,03	No
C3B3t2	0,84	0,04	No
C3B3t3	0,82	0,06	No

Nota: Esferas de quitosano al 2 y 3% y un control de alginato.

Si $|\bar{x}_i - \bar{x}_c| = \text{excede } D(17; 0, 05) = 0,25$, entonces la media del tratamiento correspondiente es diferente de la de alginato (control).

H0: $\bar{x}_i = \bar{x}_c$ El tratamiento de quitosano es igual al tratamiento control alginato.

H1: $\bar{x}_i \neq \bar{x}_c$ El tratamiento de quitosano no es igual al tratamiento control alginato.

Se aceptó la hipótesis nula H0: $\bar{x}_i = \bar{x}_c$, todos los tratamientos de quitosano al 2 y 3% fueron iguales al control del alginato, es decir, que la densidad de las esferas de estos tratamientos fue equivalente a la densidad de las esferas control, lo cual fue favorable para el objetivo planteado. Al comparar la densidad de las esferas de quitosano con las de esferas de alginato se observó que el tratamiento (C3B1t2) tuvo una densidad similar o igual a la del control (Ver Tabla 4.5). Para obtener una densidad similar con la del control, los valores de las variables pueden ser: B1 (0,5 %p/v) y t2 (60 min) con 3 %p/v de quitosano o B2 (1 %p/v) y t1 (30 min) con 2% p/v de quitosano.

⁵ $|\bar{x}_i - \bar{x}_c|$ = Diferencias entre la media de tratamiento individual y la media del control.

4.6 Comparación de estabilidad entre esferas de quitosano a diferentes concentraciones y entre esferas de quitosano con esferas de alginato.

La figura 4.6 presenta la estabilidad de las esferas de quitosano para los diferentes tratamientos comparada con la estabilidad de las esferas de alginato control. Las barras de error corresponden a la desviación estándar de tres determinaciones. La estabilidad más baja se obtuvo con el tratamiento C2B3t3 y la más alta con el tratamiento C3B2t3. La estabilidad promedio de las esferas control de alginato fue de 7236s. Se apreció que la estabilidad de las esferas de quitosano varía significativamente entre diferentes tratamientos. No se obtuvieron datos de estabilidad de quitosano al 1% con tripolifosfato de sodio, ya que las esferas se destruyeron a los pocos segundos.

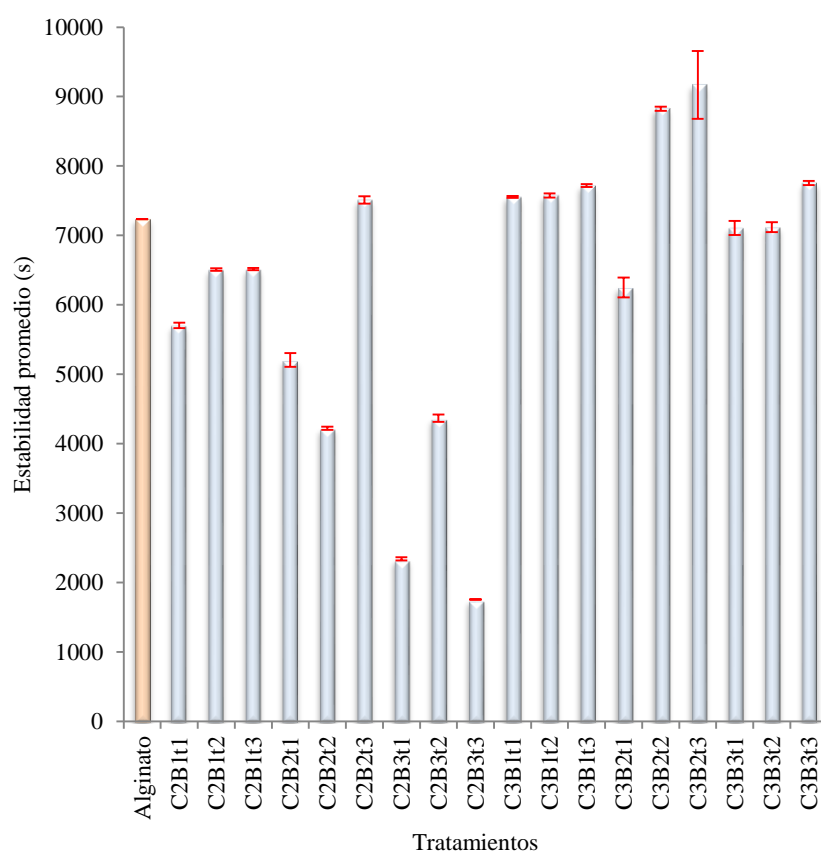


Figura 4. 6: Estabilidad de esferas de quitosano y de alginato. Barras de error para la desviación estándar de tres determinaciones.

Para la evaluación de la estabilidad, se utilizó la apreciación visual debido a que el primer contacto de una persona con un producto alimenticio se produce a través de la vista o el tacto, valorando su apariencia (forma, superficie, tamaño). Con los datos de estabilidad se realizó un análisis estadístico para comparar los diferentes tratamientos. Ver tablas 4.6; 4.7; 4.8; 4.9; 4.10 y 4.11.

Tabla 4. 6: Análisis de varianza para un DCA para la estabilidad de esferas de quitosano.

FV	SC	GL	CM	F. calculada	F. tabulada		SIG.
					5%	1%	
Total	2,13 x 10 ⁰⁸	53					
Tratamientos	2,12 x 10 ⁰⁸	17	1,25 x 10 ⁰⁷	715	2,01	2,70	**
A	1,04 x 10 ⁰⁸	1	1,04 x 10 ⁰⁸	5962,90	4,17	7,56	**
B	3,99 x 10 ⁰⁷	2	2,00 x 10 ⁰⁷	1143,84	3,32	5,39	**
C	1,04 x 10 ⁰⁷	2	5,20 x 10 ⁰⁶	298,14	3,32	5,39	**
A*B	2,28 x 10 ⁰⁷	2	1,14 x 10 ⁰⁷	653,63	3,32	5,39	**
A*C	3,66 x 10 ⁰⁵	2	1,83 x 10 ⁰⁵	10,49	3,32	5,39	**
B*C	1,60 x 10 ⁰⁷	4	4,00 x 10 ⁰⁶	229,34	2,69	4,02	**
A*B*C	1,91 x 10 ⁰⁷	4	4,78 x 10 ⁰⁶	273,78	2,69	4,02	**
E. Exp.	5,93 x 10 ⁰⁵	34	1,74 x 10 ⁰⁴				

*Nota: NS: No significativo, * Significativo al 5%, ** Significativo al 1 % A concentración de quitosano, B concentración de tripolifosfato de sodio y C tiempo de gelificación. Promedio= 6290,02s; CV= 32,42%.*

Hipótesis nula: Ho: Los tratamientos son iguales

Hipótesis Alternativa: H1: Los tratamientos no son iguales

Para los factores A, B y C se aceptaron la hipótesis alternativa, y se rechazó la hipótesis nula. La concentración de quitosano, la concentración de tripolifosfato y el tiempo de gelificación tuvieron efecto sobre la estabilidad de las esferas. Los valores de F calculada manifestaron diferencia altamente significativa en: tratamientos, factores A, B y C; interacción de factores A por B, A por C, B por C y A*B*C. La Tabla 4,6 indica que la estabilidad promedio de las esferas de quitosano al 2 y 3 % en función de las concentraciones del tripolifosfato de sodio (0,5; 1,0; y 1,5 % p/v) y tiempo de gelificación (30, 60, y 90 min) fue de 6290,02 segundos (1h 45min). El coeficiente de variación (CV) mostró que la estabilidad de esferas varió en un 32,42%, estos valores reflejaron una alta heterogeneidad entre los datos obtenidos debido a la influencia de las concentraciones de quitosano y tripolifosfato de sodio y tiempo de gelificación.

Adicionalmente, los tratamientos 17 y 18, con 3 % p/v de quitosano; 0,5 % p/v de tripolifosfato de sodio y tiempo de gelificación de 60 y 90 min (C3B2t2 y C3B2t3, respectivamente) fueron los de mayor estabilidad. Basta usar 0,5 % p/v de TPP, 3 % p/v de quitosano y 30 min de gelificación para obtener valores altos de estabilidad (Ver Tabla 4.7).

El análisis de varianza indicó que los tratamientos fueron diferentes, entonces, se utilizó la prueba de Duncan para determinar que tratamientos y que factores fueron iguales entre si y cuales diferentes (Ver Tablas 4.7; 4.8; 4.9 y 4.10).

Tabla 4. 7: Prueba de Duncan al 5% de significancia para la estabilidad de las esferas

Nº Tratamiento	Tratamientos	\bar{x}	RANGO DE DUNCAN															
18	C3B2t3	9169,33	A															
17	C3B2t2	8825,00		B														
16	C3B3t3	7756,00			C													
15	C3B1t3	7717,33				D												
14	C3B1t2	7576,00					E											
13	C3B1t1	7555,33						F										
12	C2B2t3	7512,00							G									
11	C3B3t2	7119,33								H								
10	C3B3t1	7109,67									I							
9	C2B1t3	6515,00										J						
8	C2B1t2	6509,33											K					
7	C3B2t1	6252,00												L				
6	C2B1t1	5705,67													M			
5	C2B2t1	5206,67														N		
4	C2B3t2	4367,00															O	
3	C2B2t2	4224,00																P
2	C2B3t1	2342,67																Q
1	C2B3t3	1758,00																

Nota: Promedio de tres determinaciones

Tabla 4. 8: Prueba de Duncan al 5% de significancia para la estabilidad de las esferas

Concentración de Quitosano	\bar{x}	RANGOS	
C3	23026,67	A	
C2	14713,44		B

Nota: Promedio de tres determinaciones de dos concentraciones de quitosano

Tabla 4. 9: Prueba de Duncan al 5% de significancia para la estabilidad de las esferas

Concentración de TPP	\bar{x}	RANGOS		
B1	20789,33	A		
B2	20594,50		B	
B3	15226,33			C

Nota: Promedio de tres determinaciones de concentraciones de tripolifosfato de sodio (TPP)

Tabla 4. 10: Prueba de Duncan al 5% de significancia para la estabilidad de las esferas

tiempo de gelificación	\bar{x}	RANGOS		
t3	20213,83	A		
t2	19310,33		B	
t1	17086,00			C

Nota: Promedio de tres determinaciones de tiempo de gelificación

La Tabla 4.7 demuestra que con diferentes concentraciones de tripolifosfato de sodio y tiempo de gelificación en las soluciones de quitosano de 2 y 3 %p/v, existieron 17 rangos estadísticamente diferentes (A – Q) de estabilidad. Observándose que el tratamiento 18 (C3B2t3) presentó el valor de estabilidad mayor de 9169 segundos (2h 33min), el mismo que fue importante en la conservación de las esferas. Cabe mencionar que la concentración al 3 %p/v de quitosano, con 1 % de tripolifosfato de sodio y 90 min de gelificación favoreció la estabilidad de las esferas. Un alto tiempo de gelificación permite que reaccione mejor el quitosano con el TPP dando mayor estabilidad a las esferas.

La Tabla 4.8 indica que la concentración de quitosano influyó en la estabilidad, ya que existieron dos rangos estadísticamente diferentes para las dos concentraciones.

La Tabla 4.9 muestra que la concentración de tripolifosfato de sodio influyó en la estabilidad, ya que existieron tres rangos estadísticamente diferentes para las tres concentraciones.

La Tabla 4.10 muestra que el tiempo de gelificación influyó en la estabilidad, ya que existieron tres rangos estadísticamente diferentes para los tres tiempos.

A continuación se realizó la prueba de Dunnett para comparar la estabilidad de todos los tratamientos con un control de esferas de alginato (Ver Tabla 4.11).

Tabla 4. 11: Prueba de Dunnett al 5% de significancia para la estabilidad

Tratamiento	Media \bar{x}	$ \bar{x}_i - \bar{x}_c $	¿Diferente del control?
Alginato	7236,00	-	-
C2B1t1	5705,67	1530,33	Sí
C2B1t2	6509,33	726,67	Sí
C2B1t3	6515,00	721,00	Sí
C2B2t1	5206,67	2029,33	Sí
C2B2t2	4224,00	3012,00	Sí
C2B2t3	7512,00	276,00	No
C2B3t1	2342,67	4893,33	Sí
C2B3t2	4367,00	2869,00	Sí
C2B3t3	1758,00	5478,00	Sí
C3B1t1	7555,33	319,33	No
C3B1t2	7576,00	340,00	Sí
C3B1t3	7717,33	481,33	Sí
C3B2t1	6252,00	984,00	Sí
C3B2t2	8825,00	1589,00	Sí
C3B2t3	9169,33	1933,33	Sí
C3B3t1	7109,67	126,33	No
C3B3t2	7119,33	116,67	No
C3B3t3	7756,00	520,00	Sí

Nota: Esferas de quitosano al 2 y 3%, y un control de alginato.

Si $|\bar{x}_i - \bar{x}_c| = \text{excede } D(17, .05) = 334,96$, entonces la media del tratamiento correspondiente es diferente a la del alginato (control).

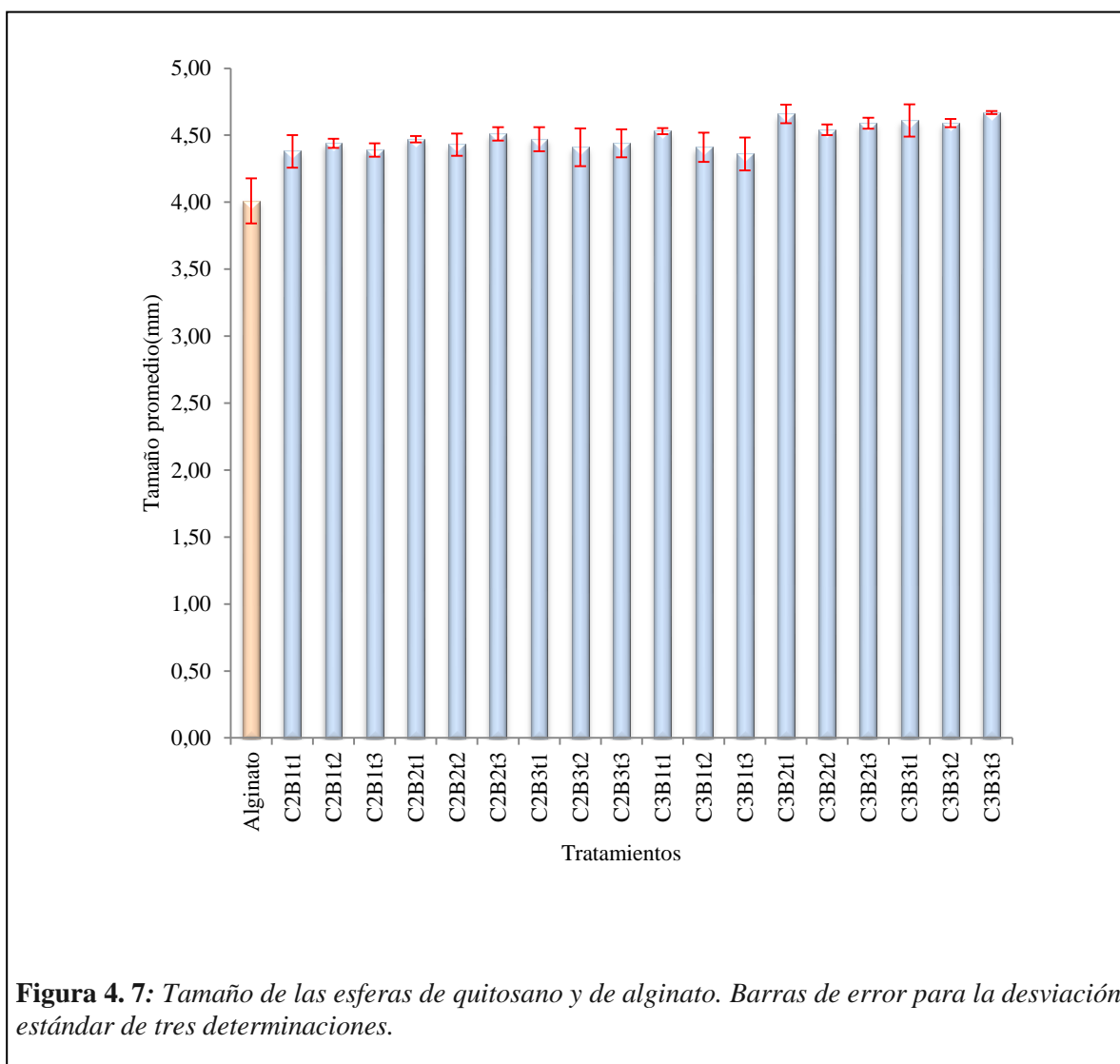
H0: $\bar{x}_i = \bar{x}_c$ El tratamiento de quitosano es igual al tratamiento control alginato.

H1: $\bar{x}_i \neq \bar{x}_c$ El tratamiento de quitosano no es igual al tratamiento control alginato.

La estabilidad de las esferas en la mayoría de los tratamientos de quitosano al 2 y 3 %p/v fueron diferentes al control de alginato. No obstante, la estabilidad de las esferas de estos cuatro tratamientos (C2B2t3, C3B1t1, C3B3t1, C3B3t2) fue equivalente a la estabilidad de las esferas control, lo cual fue favorable para el objetivo planteado. Una concentración de quitosano al 3 %p/v, 1,5 %p/v de TPP y 30 min de gelificación fue suficiente para que las esferas tengan similar estabilidad que las esferas control de alginato.

4.7 Comparación del tamaño entre esferas de quitosano a diferentes concentraciones y entre esferas de quitosano con esferas de alginato

La figura 4.7 presenta el tamaño de las esferas de quitosano para los diferentes tratamientos comparado con el tamaño de las esferas de alginato control. Las barras de error corresponden a la desviación estándar de tres determinaciones. El tamaño más pequeño se obtuvo con el tratamiento C3B1t3 y el más grande con el tratamiento C3B3t3. El tamaño promedio de las esferas control de alginato fue de 4,01 mm. Se aprecia en el gráfico que el tamaño de las esferas de quitosano varía poco entre tratamientos y es superior al del control. No se obtuvieron datos de tamaño de quitosano al 1% con tripolifosfato de sodio, ya que las esferas se destruyeron a los pocos segundos.



Con los datos obtenidos de tamaño de esferas se realizó un análisis estadístico para examinar los diferentes tratamientos, ver Tablas: 4,12; 4,13; 4,14 y 4,15.

Tabla 4. 12: Análisis de varianza para un DCA para el tamaño de esferas de quitosano

FV	SC	GL	CM	F. calculada	F. tabulada		SIG.
					5%	1%	
Total	0,72	53					
Tratamientos	0,48	17	0,03	4,00	2,01	2,70	**
A	0,17	1	0,17	24,08	4,17	7,56	**
B	0,16	2	0,08	11,33	3,32	5,39	**
C	0,02	2	0,01	1,42	3,32	5,39	NS
A*B	0,06	2	0,03	4,25	3,32	5,39	*
A*C	0,02	2	0,01	1,42	3,32	5,39	NS
B*C	0,03	4	0,01	1,06	2,69	4,02	NS
A*B*C	0,03	4	0,01	1,06	2,69	4,02	NS
E. Exp.	0,24	34	0,01				

*Nota: Esferas de quitosano. A concentración de quitosano, B concentración de tripolifosfato de sodio y C tiempo de gelificación NS: No significativo, * Significativo al 5%, ** Significativo al 1 % Promedio= 4,49mm; CV= 2,17%.*

Hipótesis nula: Ho: Los tratamientos son iguales

Hipótesis Alternativa: H1: Los tratamientos no son iguales

Para los tratamientos, los factores A y B, y la interacción A*B, se aceptó la hipótesis alternativa y se rechazó la hipótesis nula. Para el factor C, y las interacciones A*C, B*C, A*B*C se aceptó la hipótesis nula y se rechazó la hipótesis alternativa. Los valores de F calculada manifestaron diferencia significativa para la interacción A*B, y diferencia altamente significativa para los tratamientos y los factores A y B. El tamaño varió dependiendo de las concentraciones del quitosano y del tripolifosfato de sodio pero no del tiempo de gelificación. La Tabla 4.12 indica que el tamaño promedio de las esferas de quitosano al 2 y 3 %p/v en función de las concentraciones de tripolifosfato de sodio (0,5; 1,0; y 1,5 %p/v) y tiempo de gelificación (30, 60, y 90 min) fue 4,49 mm; mientras el coeficiente de variación (CV) muestra que el tamaño de las esferas varió en un 2,17%, este valor reflejó una leve heterogeneidad entre los datos obtenidos, debido a la influencia de la concentración de quitosano y la concentración de tripolifosfato de sodio. Además, los tratamientos 17 y 18, con 3 %p/v de quitosano; 1 y 1,5 %p/v de tripolifosfato de sodio y tiempo de gelificación de 30 y 90 min (C3B2t1 y C3B3t3, respectivamente) fueron los de mayor tamaño (Ver Tabla 4.13).

El análisis de varianza indicó que los tratamientos son diferentes, entonces, se utilizó la prueba de Duncan para determinar cuáles tratamientos y cuáles factores son iguales entre si y cuales diferentes (Ver Tablas 4,13; 4,14 y 4,15).

Tabla 4. 13: Prueba de Duncan al 5% de significancia para el tamaño de las esferas

Nº Tratamientos	Tratamientos	\bar{x}	RANGO DE DUNCAN	
18	C3B3t3	4,67	A	
17	C3B2t1	4,66		
16	C3B3t1	4,61		
15	C3B2t3	4,59		
14	C3B3t2	4,59		
13	C3B2t2	4,54		
12	C3B1t1	4,53		
11	C2B2t3	4,51		
10	C2B3t1	4,47	B	
9	C2B2t1	4,47		
8	C2B3t3	4,44		C
7	C2B1t2	4,44		
6	C2B2t2	4,43		
5	C2B3t2	4,41		D
4	C3B1t2	4,41		
3	C2B1t3	4,39		
2	C2B1t1	4,38		E
1	C3B1t3	4,36		

Nota: Promedio de tres determinaciones

Tabla 4. 14: Prueba de Duncan al 5% de significancia para el tamaño de las esferas

Concentración de Quitosano	\bar{x}	RANGOS
C3	13,65	A
C2	13,32	B

Nota: Promedio de tres determinaciones de dos concentraciones de quitosano

Tabla 4. 15: Prueba de Duncan al 5% de significancia para el tamaño de las esferas.

Concentración de TPP	\bar{x}	RANGOS		
B3	13,60	A		
B2	13,60		B	
B1	13,25			C

Nota: Promedio de tres determinaciones de concentraciones de tripolifosfato de sodio (TPP)

La Tabla 4.13 demuestra que con diferentes concentraciones de tripolifosfato de sodio y tiempo de gelificación en las soluciones de quitosano de 2 y 3 %p/v, existieron cinco rangos estadísticamente diferentes de tamaño. La presencia de estos rangos demostró la influencia que tienen las concentraciones de quitosano y tripolifosfato de sodio en el tamaño de las esferas.

Observándose que los tratamientos 1 y 2 (C3B1t3 y C2B1t1 respectivamente), están ubicados en el rango estadístico “E” que presentó los valores más bajos de tamaño, los mismos que fueron importantes en la apariencia de las esferas. Estos tratamientos tenían una concentración baja de TPP de 0,5 %p/v, en cambio, el tratamiento 18 (C3B3t3), tenía una concentración alta de TPP de 1,5% p/v y presentó el tamaño más grande de 4,67 mm, con la misma concentración alta de quitosano (3 %p/v) para los dos casos.

Estos ocho tratamientos (C3B3t3, C3B2t1, C3B3t1, C3B2t3, C3B3t2, C3B2t2, C3B1t1, C2B2t3) que pertenecen al rango estadístico “A”, tuvieron los valores más altos de tamaño y se asemejan en concentración de quitosano al 3%p/v y concentración de tripolifosfato de sodio al 1 y 1,5 %p/v. Al reaccionar la mayor concentración de quitosano con la mayor concentración de tripolifosfato de sodio, aumentó el tamaño de las esferas.

La Tabla 4.14 indica que la concentración de quitosano influyó en el tamaño, ya que existieron dos rangos estadísticamente diferentes para las dos concentraciones.

La Tabla 4.15 muestra que la concentración de tripolifosfato de sodio influyó en el tamaño, ya que existieron tres rangos estadísticamente diferentes para las tres concentraciones.

A continuación se realizó la prueba de Dunnett para comparar el tamaño de todos los tratamientos con un control de esferas de alginato y ver si realmente son diferentes o iguales al control (Ver Tabla 4.16).

Tabla 4. 16: Prueba de Dunnett al 5% de significancia para el tamaño

Tratamiento	Media \bar{x}	$ \bar{x}_i - \bar{x}_c $	¿Diferente del control?
Alginato	4,01	-	-
C2B1t1	4,38	0,37	Sí
C2B1t2	4,44	0,43	Sí
C2B1t3	4,39	0,38	Sí
C2B2t1	4,47	0,46	Sí
C2B2t2	4,43	0,42	Sí
C2B2t3	4,51	0,50	Sí
C2B3t1	4,47	0,46	Sí
C2B3t2	4,41	0,40	Sí
C2B3t3	4,44	0,43	Sí
C3B1t1	4,53	0,52	Sí
C3B1t2	4,41	0,40	Sí
C3B1t3	4,36	0,35	Sí
C3B2t1	4,66	0,65	Sí
C3B2t2	4,54	0,53	Sí
C3B2t3	4,59	0,58	Sí
C3B3t1	4,61	0,60	Sí
C3B3t2	4,59	0,58	Sí
C3B3t3	4,67	0,66	Sí

Nota: Esferas de quitosano al 2 y 3%, y un control de alginato.

Si $|\bar{x}_i - \bar{x}_c| = \text{excede } D(17, .05) = 0,25$, entonces la media del tratamiento correspondiente es diferente de la del alginato (control).

H0: $\bar{x}_i = \bar{x}_c$ El tratamiento de quitosano es igual al tratamiento control alginato.

H1: $\bar{x}_i \neq \bar{x}_c$ El tratamiento de quitosano no es igual al tratamiento control alginato.

La Tabla 4.16 prueba que el tamaño de las esferas de los diferentes tratamientos evaluados no fue estadísticamente igual al control de alginato, lo cual debe ser tomado en cuenta para el objetivo planteado. La capacidad de esferificación de las esferas con quitosano presentó un tamaño mayor al del control.

4.8 Comparación de la textura entre esferas de quitosano a diferentes concentraciones y entre esferas de quitosano con esferas de alginato

La figura 4.8 presenta la textura de las esferas de quitosano para los diferentes tratamientos comparado con la textura de las esferas de alginato control. Las barras de error corresponden a la desviación estándar de tres determinaciones. La textura más baja se obtuvo con el tratamiento C2B1t2. La textura más alta con el tratamiento C2B1t1, mayor que el control y con una desviación estándar apreciable. La textura promedio de las esferas control de alginato fue 0,23 mJ. Se observó que la textura de las esferas de quitosano varía apreciablemente entre tratamientos y en su mayoría fue menor que la del control. No se obtuvo datos de textura de quitosano al 1% con tripolifosfato de sodio, ya que las esferas se destruyeron a los pocos segundos.

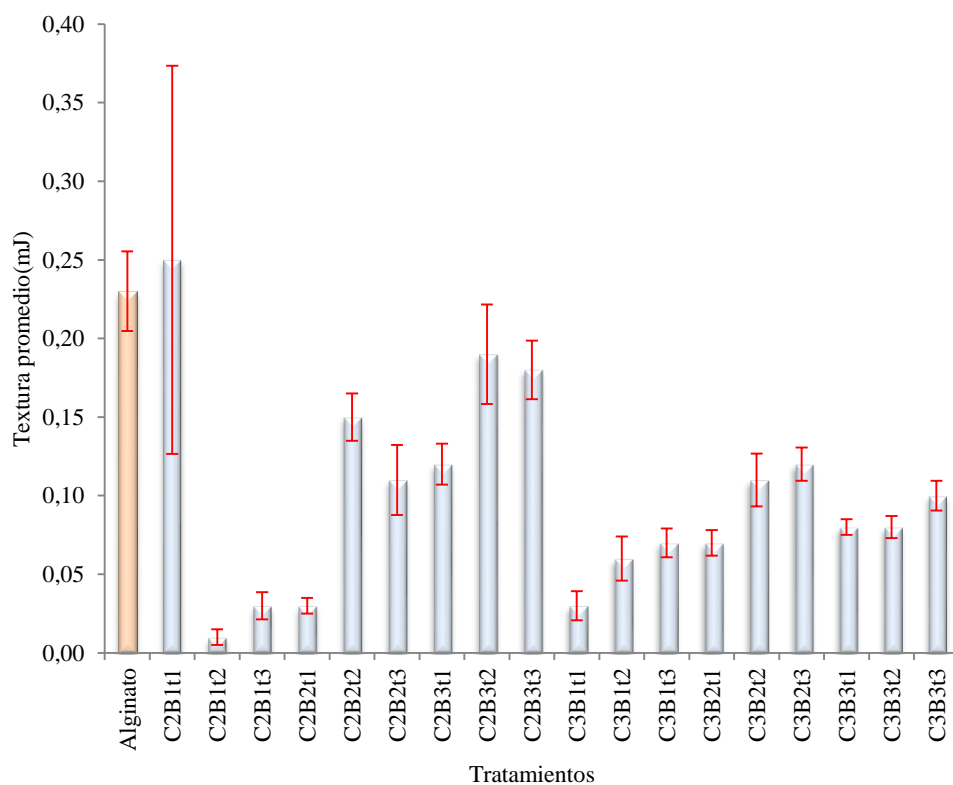


Figura 4. 8: Textura de las esferas de quitosano y de alginato. Barras de error para la desviación estándar de tres determinaciones

Con los datos obtenidos de textura de las esferas se realizó un análisis estadístico para examinar los diferentes tratamientos, ver Tablas de la 4.17; 4.18; 4.19 y 4.20.

Tabla 4. 17 : Análisis de varianza para un DCA para la textura de esferas de quitosano

FV	SC	GL	CM	F. calculada	F. tabulada		SIG
					5%	1%	
Total	0,24	53					
tratamientos	0,2	17	0,01	10,00	2,01	2,70	**
A	0,02	1	0,02	17,00	4,17	7,56	**
B	0,02	2	0,01	8,50	3,32	5,39	**
C	0,001	2	0,00	0,43	3,32	5,39	NS
A*B	0,02	2	0,01	8,50	3,32	5,39	**
A*C	0,01	2	0,01	4,25	3,32	5,39	**
B*C	0,06	4	0,02	12,75	2,69	4,02	**
A*B*C	0,07	4	0,02	14,88	2,69	4,02	**
E. Exp.	0,04	34	0,001				

Nota: A concentración de quitosano, B concentración de tripolifosfato de sodio y C tiempo de gelificación. *NS:* No significativo, * Significativo al 5%, ** Significativo al 1 %
Promedio= 0,10mJ; CV= 63,92%.

Hipótesis nula: Ho: Los tratamientos son iguales

Hipótesis Alternativa: H1: Los tratamientos no son iguales

Para los tratamientos, los factores A y B, y las interacciones se aceptó la hipótesis alternativa y se rechazó la hipótesis nula, para el factor C se aceptó la hipótesis nula y se rechazó la hipótesis alternativa. Los valores de F calculados manifestaron diferencia altamente significativa para los tratamientos, los factores A y B y las interacciones A*B, A*C, B*C, y A*B*C. La textura de las esferas varía dependiendo de la concentración del quitosano y la concentración de tripolifosfato de sodio pero no del tiempo de gelificación. La Tabla 4.17 indica que la textura promedio de las esferas de quitosano al 2 y 3 %p/v en función de las concentraciones del tripolifosfato de sodio (0,5; 1,0; y 1,5 %p/v) y tiempo de gelificación (30, 60, y 90 min) fue de 0,10 mJ; mientras el coeficiente de variación (CV) muestra que la textura de las esferas, para los diferentes tratamientos, varió en un 63,92%, este valor refleja una alta heterogeneidad entre los datos obtenidos, debido a la gran influencia que ejerce la concentración de quitosano y la concentración de tripolifosfato de sodio en la textura de las esferas.

El análisis de varianza indicó que los tratamientos fueron diferentes, entonces, se utilizó la prueba de Duncan para determinar que tratamientos y que factores fueron iguales entre si y cuales diferentes (Ver Tablas 4.18; 4.19 y 4.20).

Tabla 4. 18: Prueba de Duncan al 5% de significancia para la textura de las esferas

Nº Tratamientos	Tratamien- tos	\bar{x}	RANGO DE DUNCAN			
18	C2B1t1	0,25	A			
17	C2B3t2	0,19		B		
16	C2B3t3	0,18			B	
15	C2B2t2	0,15				
14	C3B2t3	0,12				
13	C2B3t1	0,12				
12	C3B2t2	0,11			C	
11	C2B2t3	0,11				
10	C3B3t3	0,10				
9	C3B3t2	0,08				
8	C3B3t1	0,08				
7	C3B2t1	0,07				
6	C3B1t3	0,07			D	
5	C3B1t2	0,06				
4	C2B1t3	0,03				
3	C2B2t1	0,03				
2	C3B1t1	0,03				
1	C2B1t2	0,01				
						G

Nota: Promedio de tres determinaciones

Tabla 4. 19: Prueba de Duncan al 5% de significancia para la textura de las esferas

Concentración de Quitosano	\bar{x}	RANGOS	
C2	0,35	A	
C3	0,24		B

Nota: Promedio de tres determinaciones de dos concentraciones de Quitosano

Tabla 4. 20: Prueba de Duncan al 5% de significancia para el tamaño de las esferas

Concentración de TPP	\bar{x}	RANGOS		
B3	0,37	A		
B2	0,29		B	
B1	0,22			C

Nota: Promedio de tres determinaciones de concentraciones de tripolifosfato de sodio (TPP)

La Tabla 4.18 demuestra que con diferentes concentraciones de tripolifosfato de sodio y diferentes concentraciones de quitosano, existieron siete rangos estadísticamente diferentes de textura. Observándose que el tratamiento 18 (C2B1t1), ubicado en el rango estadístico “A”, presentó el valor más alto de textura, la misma que fue importante en la aceptación de las esferas.

El valor más alto de textura correspondió al tratamiento con 0,5 %p/v de tripolifosfato de sodio en esferas elaboradas con quitosano al 2 %p/v con un valor de 0,25 mJ. Al reaccionar el quitosano con poca concentración de tripolifosfato de sodio, aumentó la textura de las esferas.

Las esferas elaboradas con 3 %p/v de quitosano, correspondientes al rango estadístico “D”, fueron esferas que encerraban poco líquido en su interior. El tratamiento 18 ubicado en el rango estadístico “A” fue una esfera que encerraba bastante líquido y su forma fue una esfera perfecta.

La Tabla 4.19 indica que la concentración de quitosano influyó en la textura, ya que existieron dos rangos estadísticamente diferentes para cada concentración.

La tabla 4.20 muestra que la concentración de tripolifosfato de sodio influyó en la textura, ya que existieron tres rangos estadísticamente diferentes.

A continuación se realizó la prueba de Dunnett para comparar la textura de todos los tratamientos contra un control de esferas de alginato y ver si realmente fueron diferentes o iguales al control (Ver Tabla 4.21).

Tabla 4. 21: Prueba de Dunnett al 5% de significancia para la textura

Tratamiento	Media	$ \bar{x}_i - \bar{x}_c $	¿Diferente del control?
Alginato	0,23	-	-
C2B1t1	0,25	0,02	NO
C2B1t2	0,01	0,22	Sí
C2B1t3	0,03	0,20	Sí
C2B2t1	0,03	0,20	Sí
C2B2t2	0,15	0,08	NO
C2B2t3	0,11	0,12	Sí
C2B3t1	0,12	0,11	Sí
C2B3t2	0,19	0,04	NO
C2B3t3	0,18	0,05	NO
C3B1t1	0,03	0,20	Sí
C3B1t2	0,06	0,17	Sí
C3B1t3	0,07	0,16	Sí
C3B2t1	0,07	0,16	Sí
C3B2t2	0,11	0,12	Sí
C3B2t3	0,12	0,11	Sí
C3B3t1	0,08	0,15	Sí
C3B3t2	0,08	0,15	Sí
C3B3t3	0,10	0,13	Sí

Nota: Esferas de quitosano al 2 y 3%, y un control de alginato. Si $|\bar{x}_i - \bar{x}_c| = \text{excede } D(17, .05) = 0,08$, entonces la media del tratamiento correspondiente es diferente de la del alginato (control)

H0: $\bar{x}_i = \bar{x}_c$ El tratamiento de quitosano es igual al tratamiento control alginato.

H1: $\bar{x}_i \neq \bar{x}_c$ El tratamiento de quitosano no es igual al tratamiento control alginato.

La Tabla 4.21 prueba que la textura de la mayoría de los tratamientos evaluados no fue estadísticamente iguales al control de alginato; es decir, que la textura de las esferas de quitosano al 2 y 3 % no llegó a ser equivalente a la textura de las esferas del control. Sin embargo, cuatro tratamientos (C2B1t1, C2B2t2, C2B3t2 y C2B3t3), no fueron diferentes al control, las esferas de estos cuatro tratamientos fueron elaboradas con quitosano al 2 %p/v. Estas condiciones fueron las adecuadas para obtener una textura similar a la del control alginato.

El valor más alto de textura en las esferas elaboradas con 2 % de quitosano constituyó el tratamiento 18 (C2B1t1) que corresponde a la menor concentración de tripolifosfato de sodio de 0,5 %p/v (Ver Tabla 4.21) con un valor de 0,25 mJ; aproximadamente igual al valor del control que fue de 0,23 mJ. Las esferas realizadas con 2 %p/v de quitosano, en general, fueron más consistentes que

las esferas de concentraciones de 3 %p/v; una mayor cantidad de quitosano hace que las esferas no tengan líquido en su interior y sean prácticamente un gel.

4.9 Análisis Sensorial (Anzaldúa, 1998)

Para la prueba se utilizó el cuestionario que se presenta en el Anexo 5.4; y para la interpretación de los resultados obtenidos se trabajó con la Tabla de significancia para prueba de dos muestras del Apéndice II del libro de Anzaldúa, (1998) que se presenta en el Anexo 5.10.

Las concentraciones de quitosano, alginato y tripolifosfato de sodio y el tiempo de gelificación, utilizados en la elaboración de las esferas se describen en la Tabla 4.22.

Tabla 4. 22: Parámetros utilizados en la elaboración de las esferas

Parámetros	Quitosano	Alginato
Concentración % (p/v)	2	1,8
Concentración TPP % (p/v)	0,5	—
Tiempo de gelificación (min)	30	1
Saborizante de limón (g)	4	4
Edulcorante (g)	2	2
Colorante verde limón (ml)	4	4

A continuación, la Tabla 4.23, indica los resultados emitidos por los jueces.

Muestra 488: Falso caviar sabor a limón realizado con alginato 1,8 %p/v y 1 minuto de gelificación.

Muestra 883: Falso caviar sabor a limón realizado con 2 %p/v de quitosano, 0,5%p/v de tripolifosfato de sodio y 30 minutos de gelificación.

Tabla 4. 23: Resultados de la prueba de preferencia realizada por los jueces

Jueces	Muestras	
	488	883
1	X	
2		X
3		X
4	X	
5		X
6	X	
7	X	
8		X
9	X	
10	X	
11		X
12		X
13		X
14		X
TOTAL	6	8

Hipótesis nula: Ho: No existe preferencia significativa entre las 2 muestras.

Hipótesis Alternativa: H1: Existe preferencia significativa entre las 2 muestras.

Según el Apéndice II, la Tabla de significancia para prueba de dos muestras al 5% de significancia (Anexo 5.10), deben existir 12 jueces que prefieran una muestra a la otra para que exista preferencia significativa (5%); por lo cual, se aceptó la hipótesis nula y se rechazó la alternativa; no existió preferencia significativa de la muestra 883(quitosano) sobre la muestra 488 (alginato).

Al tomar una decisión de preferencia hay que recordar que influye la forma, el color, sabor y la textura del producto, por esta razón, y según comentarios de los jueces, 8 de los 14 jueces eligieron la muestra 883, ya que esta presentó un mejor sabor y estabilidad que la muestra 488, a pesar que la muestra 488 presentó una mejor coloración y formación esférica.

CAPITULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones

- ✓ Se determinó el grado de desacetilación (GD) de la muestra de quitosano utilizado, que fue de 70,30%, y se midió el contenido de Nitrógeno orgánico que dio 6,98%. Comparado con el valor de la literatura (Hidalgo, Fernandez, Nieto, Paneque & Llópiz, 2009) el GD se encuentra dentro del rango de muestras comerciales de quitosano que van de 70 a 79% y se confirmó que el contenido de nitrógeno se encontraba dentro del rango de 6,83 a 7,30% para quitosano.
- ✓ El espectro infrarrojo de la muestra de quitosano mostró la presencia de los grupos funcionales característicos del polímero, la banda del grupo amino a $1652,146\text{ cm}^{-1}$, la banda de los grupos OH a $3419,355\text{ cm}^{-1}$ y para N-H a $3281,507\text{ cm}^{-1}$, las bandas del grupo C-H a $2918,835\text{ cm}^{-1}$, del grupo piranósico a $1152,882\text{ cm}^{-1}$ y el grupo C-O-C a $1017,402\text{ cm}^{-1}$. Este espectro fue similar al que presenta la literatura: la banda del grupo amino a 1621 cm^{-1} , la banda de los grupos OH a 3434 cm^{-1} y para N-H a 3254 cm^{-1} . Así mismo, las bandas del grupo C-H a 2892 cm^{-1} , del grupo piranósico a 1070 cm^{-1} y el grupo C-O-C a 1014 cm^{-1} (Hernández, Águila, Flores, Viveros, & Ramos, 2009).
- ✓ El peso molecular viscoso promedio (Mv) del quitosano fue $4,40 \times 10^5\text{ g/mol}$, similar en magnitud al peso molecular viscoso promedio $6,22 \times 10^5\text{ g/mol}$ que se indica en la literatura especializada (Parada, Crespín, Katime & Miranda, 2004).
- ✓ Pudo obtenerse esferas (falso caviar) con diferentes concentraciones de quitosano, sin embargo, no se obtuvo esferas al 1% p/v de quitosano, las esferas fueron muy débiles y se destruyeron en muy poco tiempo.
- ✓ La densidad promedio de las esferas de quitosano fue de 0,85 g/ml, con un coeficiente de variación de 10,09%. Influye en la densidad la concentración de tripolifosfato de sodio y el tiempo de gelificación. La densidad de las esferas de quitosano para todos los tratamientos fue similar a la densidad de las esferas control de alginato.
- ✓ La estabilidad promedio de las esferas de quitosano fue 6290,02 segundos, con un coeficiente de variación de 32,42%. La estabilidad es afectada por la concentración de quitosano, concentración de tripolifosfato de sodio y el tiempo de gelificación. Con 0,5 % p/v de tripolifosfato de sodio y 30 minutos gelifica el quitosano al 3 % p/v con valores altos de estabilidad. La estabilidad de estos cuatro tratamientos (C2B2t3, C3B1t1, C3B3t1 y C3B3t2) fue equivalente a la estabilidad de las esferas control de alginato.

- ✓ El tamaño promedio de las esferas de quitosano fue 4,49 mm, con un coeficiente de variación de 2,17 %. El tamaño depende de la concentración de quitosano y tripolifosfato de sodio. Para la obtención de valores altos en tamaño, se usó 3 %p/v de quitosano y de 1 al 1,5 %p/v de tripolifosfato de sodio. El tamaño de las esferas de todos los tratamientos fueron estadísticamente diferentes al tamaño de las esferas control de alginato (4.01 mm).
- ✓ La textura promedio de las esferas de quitosano fue 0,10 mJ, con un coeficiente de variación de 63,92 %. La textura es afectada considerablemente por la concentración de quitosano y tripolifosfato de sodio. Se obtuvo valores altos de textura con 2 %p/v de quitosano y 0,5 %p/v de tripolifosfato de sodio. La textura de estos cuatro tratamientos (C2B1t1, C2B2t2, C2B3t2 y C2B3t3), fueron similares a la textura de las esferas control.
- ✓ En la prueba sensorial de preferencia, no existió preferencia significativa por parte de los jueces, entre las muestras de esferas de falso caviar de alginato con las de quitosano.
- ✓ Al evaluar la capacidad de esferificación del quitosano, se pudo concluir que el quitosano sí pudo sustituir al alginato en la elaboración del falso caviar.

5.2 Recomendaciones

- ✓ Para mejorar la apariencia física de las esferas de quitosano, debe aumentarse la cantidad de colorante en la solución de quitosano.
- ✓ Para obtener esferas de forma homogénea, se recomienda el uso de pipetas Pasteur de 3ml, ya que con el uso de jeringuillas y pipetas volumétricas se obtuvieron esferas amorfas.
- ✓ Se recomienda usar el tratamiento C2B2t2 (quitosano 2 %p/v, tripolifosfato de sodio 1% p/v y tiempo de gelificación 60 minutos) para obtener la densidad, estabilidad, tamaño y textura similares a las esferas control de alginato.
- ✓ La investigación del uso de quitosano en alimentos debe continuar ensayando otras combinaciones para la elaboración de diferentes platillos en la cocina molecular.

BIBLIOGRAFÍA

1. Anzaldúa, A. (1996). La evaluación sensorial de los alimentos en la teoría y la práctica. Zaragoza: Acribia.
2. Anzaldúa, A. (1998). La evaluación sensorial de los alimentos en la teoría y la práctica. Zaragoza: Acribia.
3. Barham, P., Skibsted, L., Bredie, W., Bom, M., Moller, P., Risbo, J. Snitkjaer, P. & Morch, L. (2010). Molecular Gastronomy: A new emerging scientific discipline. Chemical Reviews. 110 (4), 2313 - 2365 p.
4. Baxter, S. (2004). Molecular weight and degree of acetylation of ultrasonicated chitosan. Tesis de Maestría en Ciencias. Knoxville:The University of Tennessee.
5. Bhumkar, D., Pokharkar, V. (2006). Studies on effect of pH on Cross - linking of chitosan with sodium tripolyphosphate: A technical note. AAPS PharmSciTech.7 (2), E1-E5.
6. Caprile, M. (2011). Obtención y utilización de quitina y quitosano a partir de desechos de crustáceos. Recuperado 30 de octubre del 2012 de Buenas Tareas.com: <http://www.buenastareas.com/ensayos/Quitina/1003754.html>
7. Chenite, A., Chaput, C., Wang, D., Combes, C., Buschmann, M., Hoemann,C., Leroux, J.,Atkinson, B. Binette, F. & Selmani, A., (2000). Novel injectable neutral solutions of chitosan form biodegradable gels in situ. Biomaterials. 21(21), 2155 - 2161 p.
8. Corell, P., García, P., Sapiña, F., Farré, I. Castells, P., Martínez, J.(2007). Efecto del ión calcio sobre las propiedades texturales de esferas de alginato aplicadas a cocina. Alimentaria: Revista de tecnología e higiene de los alimentos.(388), 79-83 p.
9. Cubero, N., Monferrer, A., & Villalta, J. (2002). Aditivos Alimentarios. Madrid: Mundi Prensa.
10. Dávila, G. (2010). Optimización del proceso de adsorción de plomo para el tratamiento de aguas sobre quitosano.Tesis de Pregrado en Química.Quito: Universidad Central del Ecuador.
11. Flores, M. (2011). Evaluación de la goma tara como sustituto del alginato en la técnica de esferificación aplicada en la cocina molecular. Tesis de Pregrado en Química de Alimentos. Quito: Universidad Central del Ecuador.
12. Flores, R, (2008). Quitina. Recuperado el 30 de octubre del 2012 de Wikipedia: <http://commons.wikimedia.org/wiki/File:QUITINA.gif>

13. Goiri, I. (2010). Chitosan as feed additive in ruminant nutrition. Tesis doctoral. País Vasco: Universidad del País Vasco.
14. Goycoolea, F., Remuñán-Lopez, C., & Alonso, M. J. (2009) Nanopartículas a base de polisacáridos: quitosano. En: (Vila, J.L. ed.) Nanotecnología Farmacéutica. Madrid: Monografías de la Real Academia Nacional de Farmacia, 103-131 p.
15. Hernández, A. (2010). Historia de la Cocina Molecular. Recuperado el 6 de abril de 2012 de Power People: <http://powerpeople1.wordpress.com/2010/12/04/cocina-molecular/>
16. Hernández, H., Águila, E., Flores, O., Viveros, E., & Ramos, E. (2009). Obtención y caracterización de quitosano a partir de exoesqueletos de camarón. *Superficies y Vacío*. 22(3).57 - 60 p.
17. Hervé, T. (2006). *Molecular Gastronomy*. New York: Columbia University Press.
18. Hidalgo, C., Fernández, M., Nieto, O., Paneque, A., & Llópiz J. (2009). Estudios de quitosanos cubanos derivados de la quitina de la langosta. *Revista Iberoamericana de polímero*. 10(1), 17 -24 p.
19. Hidalgo, C., Suárez, Y., & Fernández, M. (2008). Validación de una técnica potenciométrica para determinar el grado de desacetilación de la quitosana. *Ars Pharmaceutica* 49(3), 245 -257 p.
20. INEN, (1996). Norma técnica ecuatoriana NTE INEN 2074: Aditivos Alimentarios permitidos para el consumo humano. Recuperado el 8 de febrero de 2012 de Instituto Ecuatoriano de Normalización: <http://www.inen.gob.ec>.
21. Kuehl, R. (2001). *Diseño de experimentos*. Mexico: Thomson editores.
22. McGee, H. (2004). *On food and cooking: The science and lore of the kitchen*. New York: Scribner.
23. Oliveira, J. (2003). Estudio de la biosorción de cobre Cu(II) por perlas de alginato de calcio. Tesis de Pregrado en Química. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos.
24. Parada L., Crespín G., Miranda R. & Katime I. (2004). Caracterización de quitosano por viscosimetría capilar y valoración potenciométrica. *Revista Iberoamericana de polímeros*. 5(1), 12 -13 p.
25. Pastor de Abram, A. (2004). *Quitina y Quitosano: obtención, caracterización y aplicaciones*. Lima: Fondo Editorial Universidad Católica del Perú.

26. Picout, D., & Ross-Murphy, S. (2007). On the Mark-Houwink parameters for galactomannans. *Carbohydrate polymers* .70 (2), 145 - 148 p.
27. Prat, A. (2011). Ciencia y Cocina. Elemental watson "la" revista. 2(4), 22-26 p.
28. Ravi, M.(2000). A review of chitin and chitosan applications. *Reactive & Functional Polymers*. 46(1), 1 -27 p.
29. Romero, N. (2011). Métodos de análisis para la determinación de nitrógeno y constituyentes nitrogenados en alimentos. Recuperado el 9 de abril del 2012 de Depósito de Documentos de la FAO: <http://www.fao.org/docrep/010/ah833s/Ah833s17.htm>
30. Romo, L. A. (1981). *Coloideoquímica, coloideofísica y fenómenos de superficie*. Quito: Universidad Central del Ecuador.
31. Sánchez, A., Sibaja, M., Vega - Baudrit, J. & Rojas, M. (2007). Utilización de soportes de hidrogel de quitosano obtenidos a partir de desechos del camarón langostino (*Pleuroncodes planipes*) para el crecimiento "in vitro" de fibroblastos humanos. *Revista Ibeoamericana de Polímeros*. 8 (5), 347 - 362 p.
32. Sánchez A., Sibaja M., Vega - Baudrit, J.& Madrigal J. (2007). Síntesis y caracterización de hidrogeles del quitosano obtenido a partir del camarón langostino (*Pleuroncodes planipes*) con potenciales aplicaciones biomédicas. *Revista Ibeoamérica de Polímeros*. 8(4), 241 - 267 p.
33. Soro, L. M. (2007). Estudio de la obtención de quitosano a partir de caparazón de camarón (*Penaeus Vannemei*) y su aplicación en la estabilidad de una emulsión aceite en agua. Tesis de Pregrado en Ingeniería de Alimentos. Guayaquil: Escuela Superior Politécnica del Litoral.
34. Triplenlace. (2012). Sferificaciones y macarrones, "un libro para enseñar ciencia a través de la cocina, o al revés". Recuperado el 10 de enero de 2013 de triplenlace: <http://triplenlace.com/2012/10/10/sferificaciones-y-macarrones-un-libro-para-ensenar-ciencia-a-traves-de-la-cocina-o-al-reves/>
35. Valverde, S.(2009). Falso cuscús de gazpacho andaluz con perlas de tomate texturizado. Recuperado el 10 de enero de 2013 de Gastronomía & Cía: <http://www.gastronomiaycia.com/2009/11/06/falso-cuscus-de-gazpacho-andaluz-con-perlas-de-tomate-texturizado/>

ANEXOS

Anexo 5. 1: Aditivos Alimentarios permitidos para consumo humano

TABLA 4 Sustancias agentes de firmeza y textura

SIN	ADITIVO	USOS PERMITIDOS	DOSIS MAXIMA mg/kg
263	ACETATO DE CALCIO (*)	Esta sustancia puede ser usada en alimentos a niveles que no excedan de las PCF, entendiéndose como tal los niveles siguientes: Productos de homear. Quesos. Gelatinas, pudines y preparaciones para postres. Salsas dulces y jarabes para recubrimiento. Otras categorías de alimentos (ver numeral 5.2.2).	2 000, del producto listo para servir. 200, del producto terminado. 2 000, del producto listo para servir. 1 500, del producto listo para servir. 10, del producto listo para servir.
401	ALGINATO DE SODIO (*)	Gelatinas, pudines y preparaciones para postres. Otras categorías de alimentos (ver numeral 5.2.2).	40 000, del producto listo para servir 10 000, del producto listo para servir

NTE INEN 2 074

1996-11

401	ALGINATO DE SODIO (*)	Alimentos preparados a base de quesos procesados(queso fundido). Queso cottage y queso crema. Pepinos encurtidos. Yogur con sabores y productos de yogur tratados térmicamente después de la fermentación. Productos de confitería y revestimientos para pastelería.	8 000, del producto terminado, solo o mezclado con otros estabilizadores y/o espesantes. 5 000, de la mezcla para formar la crema, solo o mezclado con otros estabilizadores y/o espesantes. 500, del producto terminado. 5 000, del producto, solo o mezclado con otros estabilizadores y/o espesantes. 3 000, en el producto listo para consumo.
-----	-----------------------	--	--

(*) Aditivo multipropósito

Nota: NORMA NTE INEN 2074:401Alginato de sodio. (INEN, 1996)

Anexo 5. 2: Aditivos Alimentarios permitidos para consumo humano

SIN	ADITIVO	USOS PERMITIDOS	DOSIS MAXIMA mg/kg
450 ii	PIROFOSFATO DISODICO	Quesos procesados y pro-	9 000, de fosfatos tota-
339 i	MONOFOSFATO	ductos preparados a base	les, expresados como
451 i	MONOSODICO	de quesos procesados	fósforo, por kilogramo de
452 i	TRIFOSFATO	(queso fundido)	producto terminado.
339iii	PENTASODICO	Otros alimentos: estas sustancias es reconocida como	
	POLIFOSFATO DE SODIO		
	PIROFOSFATO		

Nota: NORMA NTE INEN 2074: 451 Tripolifosfato de sodio. (INEN, 1996)

Anexo 5. 3: Aditivos Alimentarios permitidos para consumo humano

Lista positiva de sustancias agentes secuestrantes o quelatos.

SIN	ADITIVOS	USOS PERMITIDOS
263	ACETATO DE CALCIO (*)	Puede emplearse conforme se indica en el numeral 6.1.20, tabla 19 de la presente norma.
330	ACIDO CITRICO (*)	Puede emplearse con seguridad en alimentos, de acuerdo a las PCF, ver numeral 5.2.1.

Nota: NORMA NTE INEN 2074:330 Ácido Cítrico. (INEN, 1996)

Anexo 5. 4: Formato utilizado para la prueba de preferencia por los jueces

UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

CARRERA DE QUÍMICA DE ALIMENTOS

PRUEBA DE PREFERENCIA

Nombre:

Fecha:.....

Producto: **FALSO CAVIAR DE QUITOSANO Y ALGINATO.**

Pruebe por favor las dos muestras que se le presentan.

Primero pruebe la muestra marcada con **488** y después la muestra **883**

INDIQUE CUAL DE LAS DOS MUESTRAS PREFIERE

Prefiero la muestra.....

Comentarios:

.....
.....
.....

MUCHAS GRACIAS

Anexo 5. 5: Análisis Químico de Agua mineral natural sin gas

ANÁLISIS QUÍMICO	mg/l
Calcio (Ca^{++})	22
Magnesio (Mg^{++})	58
Sodio (Na^{+})	51
Potasio (K^{+})	52
Bicarbonatos (HCO_3^{-})	380
Sulfatos (SO_4^{2-})	27
Cloruros (Cl^{-})	32
Sólidos disueltos	440
Reg. San.: 07606 INHQAN 0170	

Nota: The Tesalia Spring Company S.A

Anexo 5. 6: Apéndice IV . Tablas de distribución F.

APENDICE IV

TABLAS DE DISTRIBUCION F

n_1 = grados de libertad para el numerador

n_2 = grados de libertad para el denominador

Tabla 1. Valores de F para un nivel de significancia del 5%

n_1 n_2	1	2	3	4	5	6	8	12	24	∞
1	161,4	199,5	215,7	224,6	230,2	234	238,9	243,9	249	255
2	18,51	19,00	19,16	19,25	19,30	19,33	19,37	19,41	19,5	19,5
3	10,13	9,55	9,28	9,12	9,01	8,94	8,84	8,74	8,64	8,53
4	7,71	6,94	6,59	6,39	6,26	6,16	6,04	5,91	5,77	5,63
5	6,61	5,79	5,41	5,19	5,05	4,95	4,82	4,68	4,53	4,36
6	5,99	5,14	4,76	4,53	4,39	4,28	4,15	4,00	3,84	3,67
7	5,59	4,74	4,35	4,12	3,97	3,87	3,73	3,57	3,41	3,23
8	5,32	4,46	4,07	3,84	3,69	3,58	3,44	3,28	3,12	2,93
9	5,12	4,26	3,86	3,63	3,48	3,37	3,23	3,07	2,90	2,71
10	4,96	4,10	3,71	3,48	3,33	3,22	3,07	2,91	2,74	2,54
11	4,84	3,98	3,59	3,36	3,20	3,09	2,95	2,79	2,61	2,40
12	4,75	3,88	3,49	3,26	3,11	3,00	2,85	2,69	2,50	2,30
13	4,67	3,80	3,41	3,18	3,02	2,92	2,77	2,60	2,42	2,21
14	4,60	3,74	3,34	3,11	2,96	2,85	2,70	2,53	2,35	2,13
15	4,54	3,68	3,29	3,06	2,90	2,79	2,64	2,48	2,29	2,07
16	4,49	3,63	3,24	3,01	2,85	2,74	2,59	2,42	2,24	2,01
17	4,45	3,59	3,20	2,96	2,81	2,70	2,55	2,38	2,19	1,96
18	4,41	3,55	3,16	2,93	2,77	2,66	2,51	2,34	2,15	1,92
19	4,38	3,52	3,13	2,90	2,74	2,63	2,48	2,31	2,11	1,88
20	4,35	3,49	3,10	2,87	2,71	2,60	2,45	2,28	2,08	1,84

(continúa)

Nota: (Anzaldúa, 1998)

Anexo 5. 7: Tablas F (continuación del apéndice IV), para un nivel de significancia 5%

166

LA EVALUACION SENSORIAL DE LOS ALIMENTOS

Tabla 1. (continuación).

n_1	1	2	3	4	5	6	8	12	24	∞
n_2										
21	4,32	3,47	3,07	2,84	2,68	2,57	2,42	2,25	2,05	1,81
22	4,30	3,44	3,05	2,82	2,66	2,55	2,40	2,23	2,03	1,78
23	4,28	3,42	3,03	2,80	2,64	2,53	2,38	2,20	2,00	1,76
24	4,26	3,40	3,01	2,78	2,62	2,51	2,36	2,18	1,98	1,73
25	4,24	3,38	2,99	2,76	2,60	2,49	2,34	2,16	1,96	1,71
26	4,22	3,37	2,98	2,74	2,59	2,47	2,32	2,15	1,95	1,69
27	4,21	3,35	2,96	2,73	2,57	2,46	2,30	2,13	1,93	1,67
28	4,20	3,34	2,95	2,71	2,56	2,44	2,29	2,12	1,91	1,65
29	4,18	3,33	2,93	2,70	2,54	2,43	2,28	2,10	1,90	1,64
30	4,17	3,32	2,92	2,69	2,53	2,42	2,27	2,09	1,89	1,62
40	4,08	3,23	2,84	2,61	2,45	2,34	2,18	2,00	1,79	1,51
60	4,00	3,15	2,76	2,52	2,37	2,25	2,10	1,92	1,70	1,39
120	3,92	3,07	2,68	2,45	2,29	2,17	2,02	1,83	1,61	1,25
∞	3,84	2,99	2,60	2,37	2,21	2,09	1,94	1,75	1,52	1,00

APENDICES

167

Tabla 2. Valores de F para un nivel de significancia del 1%

n_1	1	2	3	4	5	6	8	12	24	∞
n_2										
1	4052	4999	5403	5625	5764	5859	5981	6106	6234	6366
2	98,49	99,00	99,17	99,25	99,30	99,33	99,36	99,42	99,46	99,5
3	34,12	30,81	29,46	28,71	28,24	27,91	27,49	27,05	26,60	26,12
4	21,20	18,00	16,69	15,98	15,52	15,21	14,80	14,37	13,93	13,46
5	16,26	13,27	12,06	11,39	10,97	10,67	10,29	9,89	9,7	9,02
6	13,74	10,92	9,78	9,15	8,75	8,47	8,10	7,72	7,31	6,88
7	12,25	9,5	8,45	7,85	7,46	7,19	6,84	6,47	6,07	5,65
8	11,26	8,5	7,59	7,01	6,63	6,37	6,03	5,67	5,28	4,86
9	10,56	8,02	6,99	6,42	6,06	5,80	5,47	5,11	4,73	4,31
10	10,04	7,56	6,55	5,99	5,64	5,39	5,06	4,71	4,33	3,91
11	9,65	7,20	6,22	5,67	5,32	5,07	4,74	4,40	4,02	3,60
12	8,33	6,93	5,95	5,41	5,06	4,82	4,50	4,16	3,78	3,36
13	9,07	6,70	5,74	5,20	4,86	4,62	4,30	3,96	3,59	3,16
14	8,86	6,51	5,56	5,03	4,69	4,46	4,14	3,80	3,43	3,00
15	8,68	6,36	5,42	4,89	4,56	4,32	4,00	3,67	3,29	2,87
16	8,53	6,23	5,29	4,77	4,44	4,20	3,89	3,55	3,18	2,75
17	8,40	6,11	5,18	4,67	4,34	4,10	3,79	3,45	3,08	2,65
18	8,28	6,01	5,09	4,58	4,25	4,01	3,71	3,37	3,00	2,57
19	8,18	5,93	5,01	4,50	4,17	3,94	3,63	3,30	2,92	2,49
20	8,10	5,85	4,94	4,43	4,10	3,87	3,56	3,23	2,86	2,42
21	8,02	5,78	4,87	4,37	4,04	3,81	3,51	3,17	2,80	2,36
22	7,94	5,72	4,82	4,31	3,99	3,76	3,45	3,12	2,75	2,31
23	7,88	5,66	4,76	4,26	3,94	3,71	3,41	3,07	2,70	2,26
24	7,82	5,61	4,72	4,22	3,90	3,67	3,36	3,03	2,66	2,21
25	7,77	5,57	4,68	4,18	3,86	3,63	3,32	2,99	2,62	2,17
26	7,72	5,53	4,64	4,14	3,82	3,59	3,29	2,96	2,58	2,13
27	7,68	5,49	4,60	4,11	3,78	3,56	3,26	2,93	2,55	2,10
28	7,64	5,45	4,57	4,07	3,75	3,53	3,23	2,90	2,52	2,06
29	7,60	5,42	4,54	4,04	3,73	3,50	3,20	2,87	2,49	2,03
30	7,56	5,39	4,51	4,02	3,70	3,47	3,17	2,84	2,47	2,01
40	7,31	5,18	4,31	3,83	3,51	3,29	2,99	2,66	2,29	1,80
60	7,08	4,98	4,13	3,65	3,34	3,12	2,82	2,50	2,12	1,60
120	6,85	4,79	3,95	3,48	3,17	2,96	2,66	2,34	1,95	1,38
∞	6,64	4,60	3,78	3,32	3,02	2,80	2,51	2,18	1,79	1,00

Fuente: Larmond (1977).

Nota:(Anzaldúa, 1998)

Anexo 5. 8: Valores de t múltiple para la prueba de Duncan

206 APÉNDICE

Tabla 7. Valores de t múltiple para la prueba de Duncan

GL _{error}	α	a = número de promedios incluidos en el rango						
		2	3	4	5	6	7	8
1	0.05	18.0	18.0	18.0	18.9	18.0	18.0	18.0
	0.01	90.0	90.0	90.0	90.0	90.0	90.0	90.0
2	0.05	6.09	6.09	6.09	6.09	6.09	6.09	6.09
	0.01	14.0	14.0	14.0	14.0	14.0	14.0	14.0
3	0.05	4.50	4.50	4.50	4.50	4.50	4.50	4.50
	0.01	8.26	8.5	8.6	8.7	8.8	8.9	8.9
4	0.05	3.93	4.01	4.02	4.02	4.02	4.02	4.02
	0.01	6.51	6.8	6.9	7.0	7.1	7.1	7.2
5	0.05	3.64	3.74	3.79	3.83	3.83	3.83	3.83
	0.01	5.70	5.96	6.11	6.18	6.26	6.33	6.40
6	0.05	3.46	3.58	3.64	3.68	3.68	3.68	3.68
	0.01	5.24	5.51	5.65	5.73	5.81	5.88	5.95
7	0.05	3.35	3.47	3.54	3.58	3.60	3.61	3.61
	0.01	4.95	5.22	5.37	5.45	5.53	5.61	5.69
8	0.05	3.26	3.39	3.47	3.52	3.55	3.56	3.56
	0.01	4.74	5.00	5.14	5.23	5.32	5.40	5.47
9	0.05	3.20	3.34	3.41	3.47	3.50	3.52	3.52
	0.01	4.60	4.86	4.99	5.08	5.17	5.25	5.32
10	0.05	3.15	3.30	3.37	3.43	3.46	3.47	3.47
	0.01	4.48	4.73	4.88	4.96	5.06	5.13	5.20
11	0.05	3.11	3.27	3.35	3.39	3.43	3.44	3.45
	0.01	4.39	4.63	4.77	4.86	4.94	5.01	5.06
12	0.05	3.08	3.23	3.33	3.36	3.40	3.42	3.44
	0.01	4.32	4.55	4.68	4.76	4.84	4.92	4.96
13	0.05	3.06	3.21	3.30	3.35	3.38	3.41	3.42
	0.01	4.26	4.48	4.62	4.69	4.74	4.84	4.88
14	0.05	3.03	3.18	3.27	3.33	3.37	3.39	3.41
	0.01	4.21	4.42	4.55	4.63	4.70	4.78	4.83
15	0.05	3.01	3.16	3.25	3.31	3.36	3.38	3.40
	0.01	4.17	4.37	4.50	4.58	4.64	4.72	4.77

(Continúa...)

APÉNDICE

207

Tabla 7 (continuación)

GL _{error}	α	a = número de promedios incluidos en el rango						
		9	10	12	14	16	18	20
1	0.05	18.0	18.0	18.0	18.0	18.0	18.0	18.0
	0.01	90.0	90.0	90.0	90.0	90.0	90.0	90.0
2	0.05	6.09	6.09	6.09	6.09	6.09	6.09	6.09
	0.01	14.0	14.0	14.0	14.0	14.0	14.0	14.0
3	0.05	4.50	4.50	4.50	4.50	4.50	4.50	4.50
	0.01	9.0	9.0	9.0	9.1	9.2	9.3	9.3
4	0.05	4.02	4.02	4.02	4.02	4.02	4.02	4.02
	0.01	7.2	7.3	7.3	7.4	7.4	7.5	7.5
5	0.05	3.83	3.83	3.83	3.83	3.83	3.83	3.83
	0.01	6.44	6.5	6.6	6.6	6.7	6.7	6.8
6	0.05	3.68	3.68	3.68	3.68	3.68	3.68	3.68
	0.01	6.00	6.0	6.1	6.2	6.2	6.3	6.3
7	0.05	3.61	3.61	3.61	3.61	3.61	3.61	3.61
	0.01	5.73	5.8	5.8	5.9	5.9	6.0	6.0
8	0.05	3.56	3.56	3.56	3.56	3.56	3.56	3.56
	0.01	5.51	5.5	5.6	5.7	5.7	5.8	5.8
9	0.05	3.52	3.52	3.52	3.52	3.52	3.52	3.52
	0.01	5.36	5.4	5.5	5.5	5.6	5.7	5.7
10	0.05	3.47	3.47	3.47	3.47	3.47	3.47	3.48
	0.01	5.24	5.28	5.36	5.42	5.48	5.54	5.55
11	0.05	3.46	3.36	3.46	3.46	3.46	3.47	3.48
	0.01	5.12	5.15	5.24	5.28	5.34	5.38	5.39
12	0.05	3.44	3.46	3.46	3.46	3.46	3.47	3.48
	0.01	5.02	5.07	5.13	5.17	5.22	5.24	5.26
13	0.05	3.44	3.45	3.45	3.46	3.46	3.47	3.47
	0.01	4.94	4.98	5.04	5.08	5.13	5.14	5.15
14	0.05	3.42	3.44	3.45	3.46	3.46	3.47	3.47
	0.01	4.87	4.91	4.96	5.00	5.04	5.06	5.07
15	0.05	3.42	3.43	3.44	3.45	3.46	3.47	3.47
	0.01	4.81	4.84	4.90	4.94	4.97	4.99	5.00

(Continúa...)

Jaque

Nota: (Anzaldúa, 1998)

Anexo 5.9: Valores de t múltiple para la prueba de Duncan. Continuación

208

APÉNDICE

Tabla 7 (continuación)

GL_{error}	α	$a = \text{número de promedios incluidos en el rango}$						
		2	3	4	5	6	7	8
16	0.05	3.00	3.15	3.23	3.30	3.34	3.37	3.39
	0.01	4.13	4.34	4.45	4.54	4.60	4.67	4.72
17	0.05	2.90	3.13	3.22	3.28	3.33	3.36	3.38
	0.01	4.10	4.30	4.41	4.50	4.56	4.63	4.68
18	0.05	2.97	3.12	3.21	3.27	3.32	3.35	3.37
	0.01	4.07	4.27	4.38	4.46	4.53	4.59	4.64
19	0.05	2.96	3.11	3.19	3.26	3.31	3.35	3.37
	0.01	4.05	4.24	4.25	4.43	4.50	4.56	4.61
20	0.05	2.95	3.10	3.18	3.25	3.30	3.34	3.36
	0.01	4.02	4.22	4.33	4.40	4.47	4.53	4.58
22	0.05	2.93	3.08	3.17	3.24	3.29	3.32	3.35
	0.01	3.99	4.17	4.28	4.36	4.42	4.48	4.53
24	0.05	2.92	3.07	3.15	3.22	3.28	3.31	3.34
	0.01	3.96	4.14	4.24	4.33	4.39	4.44	4.49
26	0.05	2.91	3.06	3.14	3.21	3.27	3.30	3.34
	0.01	3.93	4.11	4.21	4.30	4.36	4.41	4.46
28	0.05	2.90	3.04	3.13	3.20	3.26	3.30	3.33
	0.01	3.91	4.08	4.18	4.28	4.34	4.39	4.43
30	0.05	2.89	3.04	3.12	3.20	3.25	3.29	3.32
	0.01	3.89	4.06	4.16	4.22	4.32	4.36	4.41
40	0.05	2.86	3.01	3.10	3.17	3.22	3.27	3.30
	0.01	3.82	3.99	4.10	4.17	4.24	4.30	4.34
60	0.05	2.83	2.98	3.08	3.14	3.20	3.24	3.28
	0.01	3.76	3.92	4.03	4.12	4.17	4.23	4.27
100	0.05	2.80	2.95	3.05	3.12	3.18	3.22	3.26
	0.01	3.71	3.86	3.98	4.06	4.11	4.17	4.21
∞	0.05	2.77	2.92	3.02	3.09	3.15	3.19	3.23
	0.01	3.64	3.80	3.90	3.98	4.04	4.09	4.14

(Continúa...)

APÉNDICE

Tabla 7 (continuación)

GL_{error}	α	$a = \text{número de promedios incluidos en el rango}$						
		9	10	12	14	16	18	20
16	0.05	3.41	3.43	3.44	3.45	3.46	3.47	3.47
	0.01	4.76	4.79	4.84	4.88	4.91	4.93	4.94
17	0.05	3.40	3.42	3.44	3.45	3.46	3.47	3.47
	0.01	4.72	4.75	4.80	4.83	4.86	4.88	4.89
18	0.05	3.39	3.41	3.43	3.45	3.46	3.47	3.47
	0.01	4.68	4.71	4.76	4.79	4.82	4.84	4.85
19	0.05	3.39	3.41	3.43	3.44	3.46	3.47	3.47
	0.01	4.64	4.67	4.72	4.76	4.79	4.81	4.82
20	0.05	3.38	3.40	3.43	3.44	3.46	3.46	3.47
	0.01	4.61	4.65	4.69	4.73	4.76	4.78	4.79
22	0.05	3.37	3.39	3.42	3.44	3.45	3.46	3.47
	0.01	4.57	4.60	4.65	4.68	4.71	4.74	4.75
24	0.05	3.37	3.38	3.41	3.44	3.45	3.46	3.47
	0.01	4.53	4.57	4.62	4.64	4.67	4.70	4.72
26	0.05	3.36	3.38	3.41	3.43	3.45	3.46	3.47
	0.01	4.50	4.53	4.58	4.62	4.65	4.67	4.69
28	0.05	3.35	3.37	3.40	3.43	3.45	3.46	3.47
	0.01	4.47	4.51	4.56	4.60	4.62	4.65	4.67
30	0.05	3.35	3.37	3.40	3.43	3.44	3.46	3.47
	0.01	4.45	4.48	4.54	4.58	4.61	4.63	4.65
40	0.05	3.33	3.35	3.39	3.42	3.44	3.46	3.47
	0.01	4.37	4.41	4.46	4.51	4.54	4.57	4.59
60	0.05	3.31	3.33	3.37	3.40	3.43	3.45	3.47
	0.01	4.31	4.34	4.39	4.44	4.47	4.50	4.53
100	0.05	3.29	3.32	3.36	3.40	3.42	3.45	3.47
	0.01	4.25	4.29	4.35	4.38	4.42	4.45	4.48
∞	0.05	3.26	3.29	3.34	3.38	3.41	3.44	3.47
	0.01	4.17	4.20	4.26	4.31	4.34	4.38	4.41

Jaime C

Nota: (Anzaldúa, 1998)

Anexo 5. 10: Apéndice II. Tabla de significancia para prueba de dos muestras

APENDICE II						
TABLA DE SIGNIFICANCIA PARA PRUEBAS DE DOS MUESTRAS						
NUMERO DE JUICIOS	PRUEBAS DE «DOS COLAS»*			PRUEBAS DE «UNA COLA»**		
	Nivel de probabilidad			Nivel de probabilidad		
	5%	1%	0.1%	5%	1%	0.1%
5	—	—	—	5	—	—
6	—	—	—	6	—	—
7	7	—	—	7	7	—
8	8	8	—	8	8	—
9	8	9	—	9	9	—
10	9	10	—	10	10	10
11	10	11	11	11	11	11
12	10	11	12	12	12	12
13	11	12	13	13	13	13
14	12	13	14	14	14	14
15	12	13	14	15	15	15
16	13	14	15	16	16	16
17	13	15	16	17	17	17
18	14	15	17	18	18	18
19	15	16	17	19	19	19
20	15	17	18	20	20	20
21	16	17	19	21	21	21
22	17	18	19	22	22	22
23	17	19	20	23	23	23
24	18	19	21	24	24	24
25	18	20	21	25	25	25
26	19	20	22	26	26	26
27	20	21	23	27	27	27
28	20	22	23	28	28	28
29	21	22	24	29	29	29
30	21	23	25	30	30	30

(Continúa)

161

Nota:(Anzaldúa, 1998)

Anexo 5. 11: Comparaciones múltiples contra el mejor y pruebas de Dunnett.

Tabla VI Comparaciones múltiples contra el mejor y pruebas de Dunnett;
 $d_{\alpha,k,v}$ para $P(|d| \geq d_{\alpha,k,v}) = \alpha$.

$\alpha = 0.05$ (de dos lados)													
$\frac{k}{v}$	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	15	20
5	3.03	3.29	3.48	3.62	3.73	3.82	3.90	3.97	4.03	4.09	4.14	4.26	4.42
6	2.86	3.10	3.26	3.39	3.49	3.57	3.64	3.71	3.76	3.81	3.86	3.97	4.11
7	2.75	2.97	3.12	3.24	3.33	3.41	3.47	3.53	3.58	3.63	3.67	3.78	3.91
8	2.67	2.88	3.02	3.13	3.22	3.29	3.35	3.41	3.46	3.50	3.54	3.64	3.76
9	2.61	2.81	2.95	3.05	3.14	3.20	3.26	3.32	3.36	3.40	3.44	3.53	3.65
10	2.57	2.76	2.89	2.99	3.07	3.14	3.19	3.24	3.29	3.33	3.36	3.45	3.57
11	2.53	2.72	2.84	2.94	3.02	3.08	3.14	3.19	3.23	3.27	3.30	3.39	3.50
12	2.50	2.68	2.81	2.90	2.98	3.04	3.09	3.14	3.18	3.22	3.25	3.34	3.45
13	2.48	2.65	2.78	2.87	2.94	3.00	3.06	3.10	3.14	3.18	3.21	3.29	3.40
14	2.46	2.63	2.75	2.84	2.91	2.97	3.02	3.07	3.11	3.14	3.18	3.26	3.36
15	2.44	2.61	2.73	2.82	2.89	2.95	3.00	3.04	3.08	3.12	3.15	3.23	3.33
16	2.42	2.59	2.71	2.80	2.87	2.92	2.97	3.02	3.06	3.09	3.12	3.20	3.30
17	2.41	2.58	2.69	2.78	2.85	2.90	2.95	3.00	3.03	3.07	3.10	3.18	3.27
18	2.40	2.56	2.68	2.76	2.83	2.89	2.94	2.98	3.01	3.05	3.08	3.16	3.25
19	2.39	2.55	2.66	2.75	2.81	2.87	2.92	2.96	3.00	3.03	3.06	3.14	3.23
20	2.38	2.54	2.65	2.73	2.80	2.86	2.90	2.95	2.98	3.02	3.05	3.12	3.22
24	2.35	2.51	2.61	2.70	2.76	2.81	2.86	2.90	2.94	2.97	3.00	3.07	3.16
30	2.32	2.47	2.58	2.66	2.72	2.77	2.82	2.86	2.89	2.92	2.95	3.02	3.11
40	2.29	2.44	2.54	2.62	2.68	2.73	2.77	2.81	2.85	2.87	2.90	2.97	3.06
60	2.27	2.41	2.51	2.58	2.64	2.69	2.73	2.77	2.80	2.83	2.86	2.92	3.00

Nota: (Kuehl, 2001)

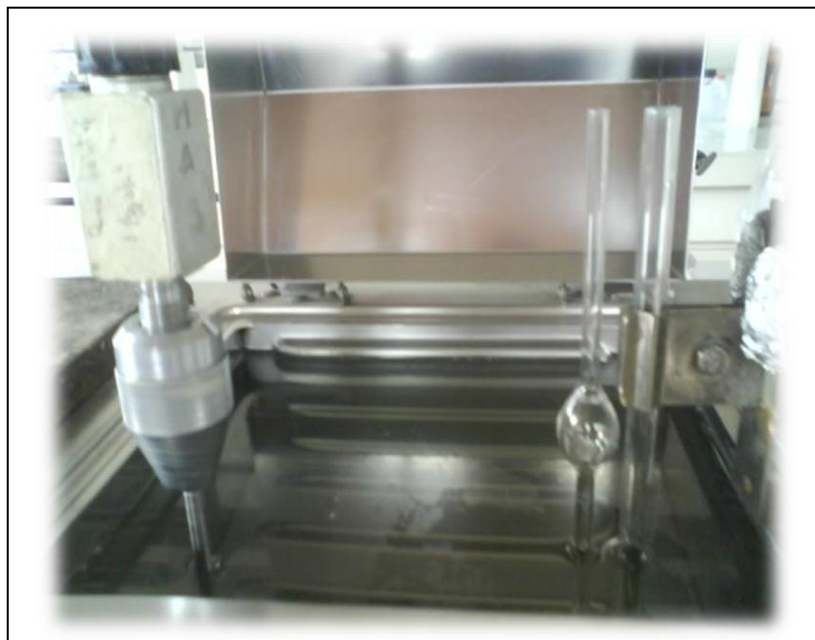
Anexo 5. 12: Analizador de textura Brookfield, modelo CT3-4500



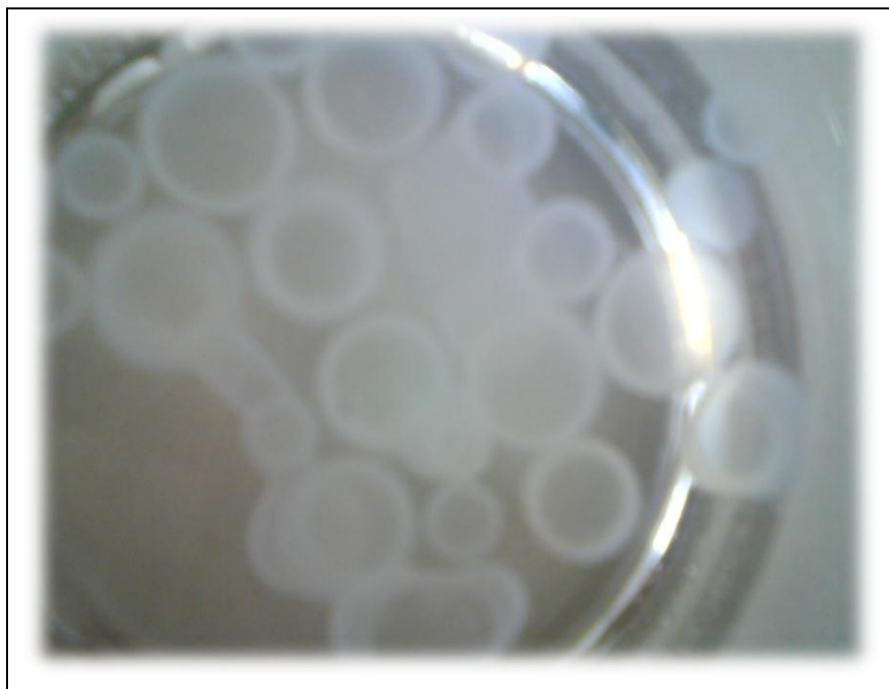
Anexo 5. 13: Calibrador para medición de tamaño



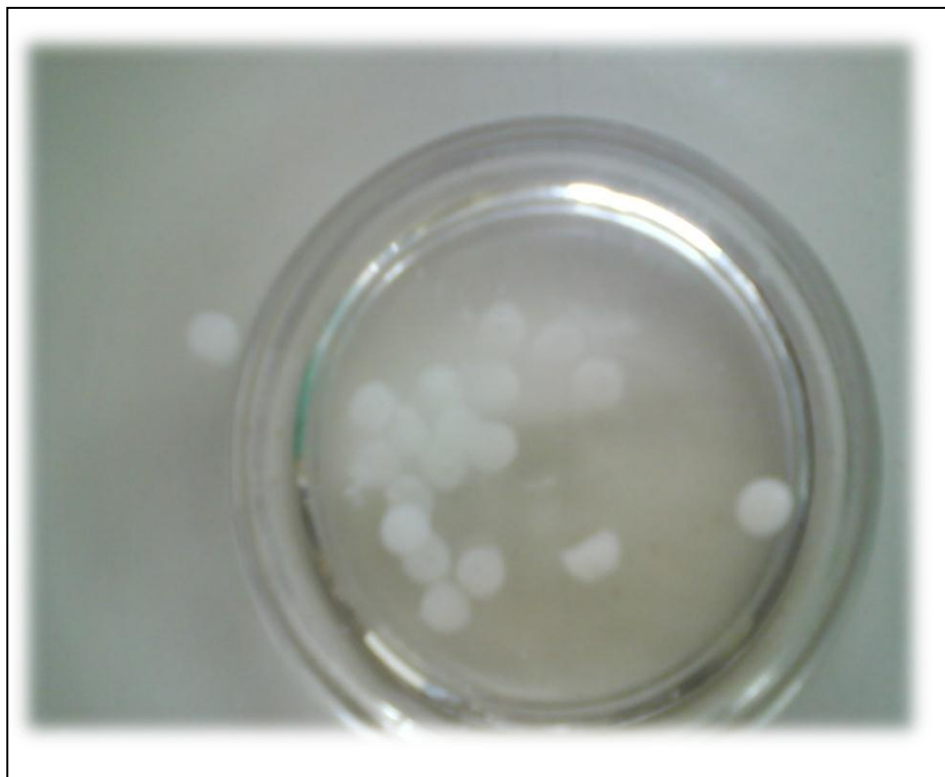
Anexo 5. 14: Equipo para determinación de viscosidad



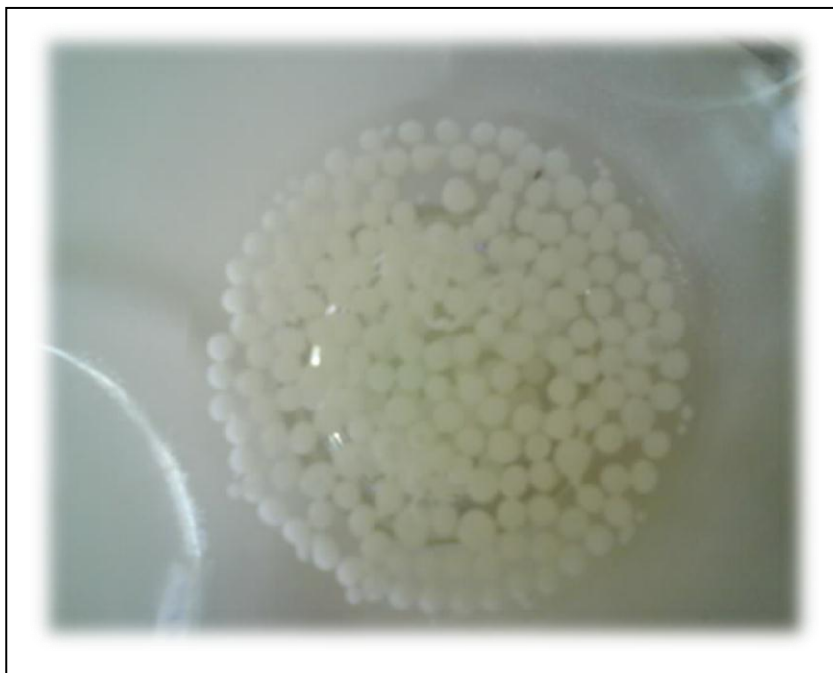
Anexo 5. 15: Esferas de quitosano 1%P/V



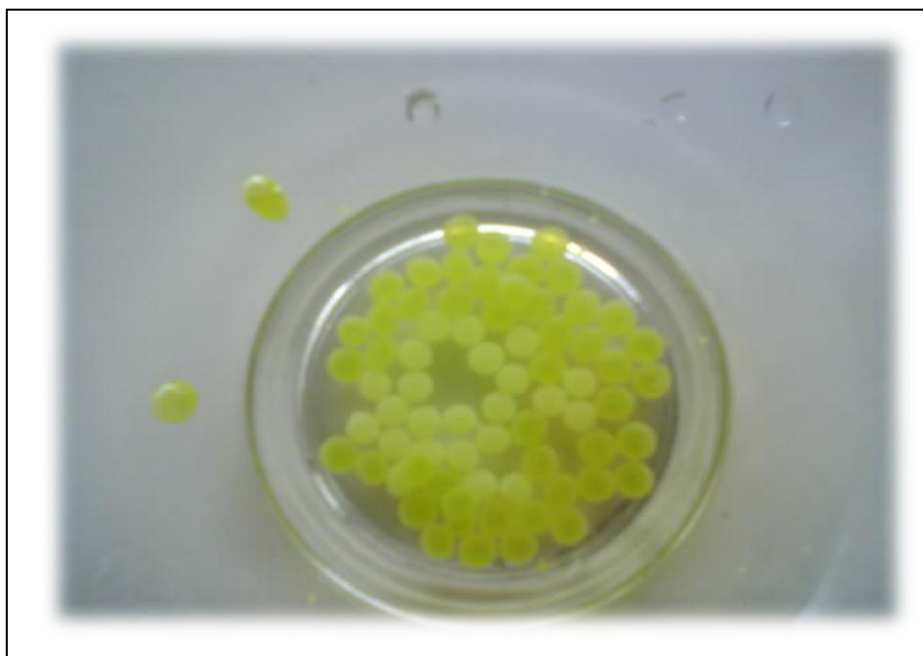
Anexo 5. 16: Esferas de quitosano 2%P/V



Anexo 5. 17: Esferas de quitosano 3%P/V



Anexo 5. 18: Esferas de alginato 0,8%P/V



Anexo 5. 19: Falso caviar al 2%P/V de quitosano, sabor limón sobre babaroise



Anexo 5. 20: Falso caviar de alginato (488) y quitosano (883) sobre babaroise

